

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ ИНСТИТУТ ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ И
ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**

На правах рукописи

КОВАЛЁВА ЕЛЕНА ВАСИЛЬЕВНА

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ
В ОЦЕНКЕ РИСКА ВОЗНИКНОВЕНИЯ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА И
КОМПЛЕКСНЫХ ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ ПОДХОДОВ В
ДИАГНОСТИКЕ И ЛЕЧЕНИИ У ПАЦИЕНТОВ ЗАПАДНО-СИБИРСКОГО
РЕГИОНА**

14.01.11 – нервные болезни

**Диссертация на соискание ученой степени
доктора медицинских наук**

**Научный консультант:
д.м.н., профессор Доронин Б.М.**

Новосибирск – 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	12
1.1. Клинико-эпидемиологическая характеристика ишемического инсульта в России и в мире.....	12
1.2. Методы диагностики инсульта в России и за рубежом.....	28
1.3. Лечение ишемического инсульта.....	30
1.4. Новые направления персонализированной медицины.....	43
1.5. Оценка факторов риска, выявленных молекулярно-генетическими исследованиями, в России и за рубежом.....	52
1.6. Основные методы реабилитации после ОНМК.....	57
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	63
2.1. Дизайн исследования.....	63
2.2. Характеристика клинического материала.....	65
2.3. Методы проведения неинвазивной комплексной инструментальной диагностики и реабилитационных мероприятий.....	69
2.4. Методы объективизации неврологического статуса.....	72
2.5. Характеристика молекулярно-генетических исследований.....	80
2.5.1. Материалы.....	80
2.5.2. Методы выделения ДНК.....	81
2.5.3. Методы ПЦР/ПДРФ диагностики.....	82
2.5.4. Генотипирование однонуклеотидных замен в режиме реального времени с использованием конкурирующих TaqMan-зондов, комплементарных полиморфным участкам ДНК.....	83
2.6. Статистические методы.....	87
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ДНК ПАЦИЕНТОВ СИБИРСКОГО РЕГИОНА.....	89
3.1. Результаты молекулярно-генетического анализа ДНК пациентов Сибирского региона, перенесших острое нарушение мозгового кровообращения.....	89
3.2. Взаимосвязь риска развития ОНМК с полиморфизмами генов системы перекисного окисления липидов.....	91
3.3. Коррелятивные связи частоты встречаемости полиморфизмов генов и особенностей течения реабилитационного периода у больных после ОНМК.....	98
Глава 4. НОВЫЕ ПОДХОДЫ В МЕДИЦИНСКОЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ, ОСНОВАННЫЕ НА КОМПЛЕКСНОЙ ПРЕЦИЗИОННОЙ РЕГИСТРАЦИИ ТЕМПЕРАТУРНОГО ОТКЛИКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕПЛОВИЗОРОВ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ.....	106
4.1. Структура универсального диагностического комплекса.....	106
4.2. Методология балльной оценки динамики неврологического статуса и применения универсального диагностического комплекса в неврологической практике.....	112
Глава 5. ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ РЕАБИЛИТАЦИОННЫХ МЕРОПРИЯТИЙ ПРИ ОНМК С ПОМОЩЬЮ УНИВЕРСАЛЬНОГО	

ДИАГНОСТИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА.....	119
5.1. Анализ результатов лечения пациентов после перенесённого ишемического инсульта при использовании стандартной программы реабилитации.....	119
5.2. Анализ эффективности реабилитационных мероприятий пациентов после перенесённого ишемического инсульта с учётом выявляемых микроциркуляторных нарушений путём применения разработанной программы диагностического поиска.....	126
Глава 6. ОБСУЖДЕНИЕ. РЕАЛИЗАЦИЯ ПРИНЦИПОВ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ В ПРОФИЛАКТИКЕ, ДИАГНОСТИКЕ, И РЕАБИЛИТАЦИИ ПОСЛЕ ОНМК.....	136
ВЫВОДЫ.....	141
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	143
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	144
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	145

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Инсульт или мозговой удар во все времена был заметной причиной тяжелого страдания или внезапной смерти, однако проблема инсульта стала особенно актуальной в последнее время. По данным современных крупных международных исследований (STONE, Syst-Eur, NICS), в структуре сердечно-сосудистой патологии инсульта стали преобладать над инфарктами миокарда по частоте примерно на 30%. Ежегодно в мире регистрируется более 30 миллионов случаев инсульта, из них на долю России приходится 450000 (или 2,5–3 случая на 1000 населения в год). Причин, вызывающих сосудистую катастрофу, очень много, потому что инсульт — это не столько заболевание, сколько очень разнородный синдром. В его основе лежат разнообразные патологические состояния крупных и мелких сосудов, нарушения системного кровотока, текучести крови. Существуют регулируемые и нерегулируемые факторы риска инсультов. Среди регулируемых факторов один из наиболее важных — артериальная гипертензия. Она диагностировалась в прошлом у 90% людей, переживших инсульт. А при ее лечении риск инсульта уменьшается наполовину. К другим важным факторам риска развития инсульта относятся — повышенный уровень холестерина, употребление соли, злоупотребление алкоголем (более 300г чистого спирта или более 600г каких-либо крепких напитков в неделю), курение, гиподинамия (физически нагрузки менее 30 минут в день), использование оральных контрацептивов, сахарный диабет, хронический стресс и недостаток положительных эмоций. К нерегулируемым факторам риска, прежде всего, относятся возраст: после 20 лет каждое следующее прожитое десятилетие вдвое увеличивает вероятность сосудистой патологии мозга, и — наследственность. Мы не выбираем себе родителей и получаем определенный набор генов от них. Предрасположенность к сосудистым патологиям передается по наследству, хотя зависимость эта и непрямая и обусловлена предрасположенностью родственников разных поколений к состояниям, повышающим риск инсульта. Степень риска

развития инсульта зависит от количества имеющихся факторов: сочетание 2-3 из них резко увеличивает опасность острого нарушения мозгового кровообращения.

Степень разработанности темы исследования

В последние годы показано, что в развитии факторов риска инсульта и возникновении сопутствующих им осложнений большую роль играют нарушение равновесия анти- и прооксидантных систем и развитие окислительного стресса [32]. Ряд сигнальных систем, в том числе связанных с фосфорилированием белков и их конформацией, с функционированием ионных каналов сосудистой стенки, находятся под сочетанным контролем ферментов перекисного окисления. Эти системы влияют на активность ряда генов – в частности генов, регулирующих синтез белков адгезии и синтазу оксида азота эндотелиальной стенки, генов, принимающих участие в воспалительном процессе и активации определенных клеточных рецепторов. Исследования, посвященные выявлению маркеров окислительного стресса при ишемическом инсульте, свидетельствуют о прямой связи наличия окисленных метаболитов в крови с ухудшением прогноза при различных подтипах ИИ, а также о высокой диагностической значимости таких маркеров [36].

В последние годы выявлен ряд генетических маркеров повышенного риска возникновения ишемического инсульта, однако фактически они ассоциированы с заболеваниями, течение которых осложняет инсульт, и его подтипами. Однако, определить патофизиологический подтип ИИ не всегда представляется возможным, кроме того, универсальные диагностические маркеры значительно увеличивают профилактическую ценность и позволяют проводить диагностику в группах с различной степенью риска. Таким образом, исходя из патофизиологических представлений об окислительном стрессе во время сосудистой катастрофы, актуально исследование генетических маркеров – полиморфных вариантов генов системы окислительного стресса – в качестве предикторов развития ишемического инсульта, а также разработка технологии

рутинной диагностики, пригодной для внедрения в широкую медицинскую практику.

Наиболее интересным представляется изучение генетических маркеров патологического окислительного стресса в качестве предикторов сосудистых заболеваний и ишемического инсульта. В зарубежной литературе есть указания на ассоциации развития ИИ и более тяжелого его течения с носительством полиморфных вариантов генов глутатион-пероксидазы GPX C599T[178], гипоксия-индуцированного фактора HIF1a C1772T[166], НАДФ-Н оксидазы p22phox C242T[98], марганцевой супероксиддисмутазы MnSOD C47T[100]. Важно отметить, что носительство данных полиморфных вариантов является фактором риска не только непосредственно ишемических инсультов, но и других заболеваний сердечно-сосудистой системы, ведущих к возникновению ОНМК [98].

Цель исследования

Разработать подходы к профилактике, диагностике, реабилитации после ОНМК на основе молекулярно-генетического исследований для определения риска возникновения ОНМК, принципов персонализированной медицины в программах реабилитации, учёта патогенетических изменений в микроциркуляторном русле.

Задачи

1. Создать Базу данных ДНК пациентов Западно-Сибирского региона, перенесших ишемический инсульт.
2. Изучить носительство полиморфизмов генов HIF1a, ApoE, MnSOD, GPX, BDNF, p22phox у жителей Западно-Сибирского региона, перенесших ишемический инсульт.
3. Оценить взаимосвязь риска развития острых нарушений мозгового кровообращения с полиморфизмами генов HIF1a, ApoE, MnSOD, GPX, BDNF,

p22phox.

4. Разработать диагностический комплекс и методологию исследований на основе одновременной динамической регистрации состояния микроциркуляции в конечностях с использованием дистантной матричной термографии, флоуметрии, пульсоксиметрии, инфракрасной плетизмографии, лазерной и электроннойромиографии.

5. Изучить особенности микроциркуляции в конечностях у пациентов, перенесших ишемический инсульт, в остром и раннем реабилитационном периодах.

6. Провести сравнительный анализ эффективности реабилитационных мероприятий при использовании стандартной диагностической программы и программы, дополненной регистрацией микроциркуляторных нарушений на универсальном диагностическом комплексе.

Научная новизна и теоретическая значимость работы

Впервые исследована частота встречаемости аллельных вариантов генов HIF1a, ApoE, MnSOD, GPX, BDNF, p22phox и этногенетические особенности их распределения в популяции Западно-Сибирского региона.

Оценена взаимосвязь риска развития ОНМК с полиморфизмами генов перекисного окисления липидов (ApoE, MnSOD, GPX, BDNF, p22phox), показано отсутствие статистически достоверной корреляции, что позволяет исключить указанные гены из обязательных молекулярно-генетических исследований для выявления риска возникновения ОНМК.

Впервые показано достоверное повышение риска возникновения ишемического инсульта у носителей полиморфного аллеля T гена HIF1a C1772T.

Впервые проведённые исследования, - одновременная динамическая регистрация состояния микроциркуляции в конечностях с использованием дистантной матричной термографии, инфракрасной плетизмографии, лазерной флоуметрии, пульсоксиметрии и электроннойромиографии - выявили

характерологические нарушения микроциркуляции (очаговые, диффузные, тотальные) в поражённых конечностях в остром и раннем реабилитационном периодах после перенесённого ишемического инсульта.

Практическая значимость работы

Создана База данных ДНК пациентов Сибирского региона, перенесших острое нарушение мозгового кровообращения (1700 образцов).

Впервые разработаны рекомендации по использованию молекулярно-генетической технологии для персонализированной ранней диагностики высокого риска развития ишемического инсульта.

Разработан диагностический комплекс для одновременной динамической регистрации состояния микроциркуляции в конечностях с использованием дистантной матричной термографии, инфракрасной плетизмографии, лазерной флоуметрии, пульсоксиметрии и электронейромиографии.

Проводимая комплексная оценка нарушений микроциркуляции после перенесённого ОНМК при помощи универсального диагностического комплекса позволяет объективизировать динамические изменения кровоснабжения поражённых конечностей в ходе лечения и реабилитационных мероприятий, что является дополнительным критерием эффективности реабилитации.

Используемые дополнительные критерии эффективности реабилитационных мероприятий позволяют учитывать наблюдаемые изменения микроциркуляции для внесения корректив в программу лечения и реабилитации с учётом выявленных особенностей. Применение на практике данного подхода соответствует принципам персонализированной медицины и приводит к увеличению эффективности реабилитационных мероприятий, улучшая прогноз раннего реабилитационного периода.

Разработана методология исследований. Данный комплекс может применяться в клинической практике для оценки состояния микроциркуляции в конечностях при других (не неврологических) патологиях.

Методология и методы исследования

Методологически и теоретически исследование базировалось на работах отечественных и зарубежных авторов в области неврологии, реабилитологии, эпидемиологии, молекулярной генетики, лучевых методов диагностики, медицинской физики, организации здравоохранения. В ходе исследования применялись системный подход и методы статистического анализа.

При проведении исследования использовались различные диагностические методы: сбор анамнеза, клиническое, неврологическое обследование пациентов с ишемическим инсультом и пациентов группы контроля по общепринятым методикам, молекулярно-генетическое тестирование на наличие носительства однонуклеотидных мутаций генов перекисного окисления липидов, выполнение исследования состояния микроциркуляторного русла в паретичных конечностях при помощи универсального диагностического комплекса, включающего пульсоксиметрию, плетизмографию, лазерную доплеровскую флоуметрию, дистантную термографию.

Положения, выносимые на защиту

1. Результаты молекулярно-генетического исследования групп с ишемическим инсультом и контрольной, а также сравнительный анализ между подгруппами с различным течением периода реабилитации показали, что носительство полиморфизма гена HIF1a является статистически достоверным, значимым маркером высокого риска развития ишемического инсульта.

2. Молекулярно-генетические исследования полиморфизмов генов перекисного окисления липидов (ApoE, MnSOD, GPX, BDNF, p22phox) не могут быть использованы для оценки степени риска возникновения ОНМК у жителей Западно-Сибирского региона.

3. Разработанная структура универсального диагностического комплекса и методология его применения у пациентов, перенесших ОНМК обеспечивают получение объективных данных о состоянии микроциркуляции в режиме

реального времени, являются неинвазивными, безопасными, хорошо воспроизводимыми и открывают новые перспективы в количественной диагностике нарушений микроциркуляции конечностей, в частности, после ИИ. Методики удобны, просты в применении, и могут быть рекомендованы для рутинного применения в комплексе диагностики и реабилитации после ИИ.

4. Выявлено, что при лечении согласно персонализированному алгоритму улучшения в микроциркуляторном русле наблюдаются у достоверно большего числа пациентов. Улучшения подтверждены при обследовании по каждому компоненту универсального диагностического комплекса. Использование предлагаемых критериев оценки состояния микроциркуляции конечностей у пациентов после перенесённого ИИ существенно улучшает результаты реабилитации в раннем реабилитационном периоде.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты научного исследования внедрены в практику работы взрослого отделения неврологии и реабилитации Центра персонализированной медицины, лаборатории персонализированной медицины ФГБУН ИХБФМ СО РАН.

Результаты диссертационной работы «Использование молекулярно-генетических технологий в оценке риска возникновения ишемического инсульта и комплексных инструментальных подходов в диагностике и лечении у пациентов Западно-Сибирского региона» активно применяются в процессе практического обучения, а также при подготовке выпускных квалификационных работ студентов 5-6 курсов Института медицины и психологии Новосибирского Государственного Университета.

Степень достоверности и апробация результатов

Научные положения и практические рекомендации, сформулированные автором в диссертации, основаны на изучении достаточного объема клинического материала и результатов молекулярно-генетических исследований. В работе

использованы современные методы исследования, полностью соответствующие поставленным задачам. Выводы аргументированы и вытекают из проведенных автором исследований. Статистическая обработка выполнена согласно современным требованиям медицинской и генетической статистики. Практические рекомендации внедрены в работу отделения неврологии Центра персонализированной медицины ФГБУН ИХБФМ СО РАН.

Основные положения диссертационной работы были представлены и обсуждены на Конгрессе Национальной ассоциации по борьбе с инсультом (Казань, 2014 г.), Всероссийской конференции с международным участием «Фундаментальные науки – медицине» (Новосибирск, 2015 г.), Всероссийской конференции с международным участием «Фундаментальные науки – медицине» (Новосибирск, 2016 г.), Международной конференции, посвящённой 100-летию со дня рождения академика АН СССР Д. К. Беляева, «Беляевские чтения» (Новосибирск, 2017 г.), Всероссийской конференции с международным участием «Биотехнология – медицине будущего» (Новосибирск, 2017 г.), XI Всероссийском съезде неврологов и IV Конгрессе Национальной Ассоциации по борьбе с инсультом (Санкт-Петербург, 2019г.).

Апробация диссертации состоялась на объединенном заседании сотрудников лаборатории стволовой клетки, лаборатории технологий управления здоровьем, инвазивных медицинских технологий, восстановительной медицины, проблем репродукции и персонализированной медицины ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН 3 июня 2019 года, протокол № 6.

Публикации

Основные положения диссертационной работы отражены в 13 научных работах, из них 11 статей опубликованы в рецензируемых журналах из списка ВАК.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 165 страницах компьютерного текста, содержит введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты исследования, обсуждение, выводы, практические рекомендации и список цитируемой литературы (74 отечественных и 118 иностранных источников). Диссертация содержит 33 таблицы и 13 рисунков.

Глава 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Клинико-эпидемиологическая характеристика ишемического инсульта в России и в мире

Статистика заболеваемости инсультом. Острые нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) – глобальная общемировая проблема. Ежегодно заболевает инсультом 0,2% населения (2000 на 1 млн. населения), или приблизительно 15 миллионов человек. Из них треть умирает в течение последующего года (4,4 млн. смертей), треть утрачивает работоспособность и лишь треть больных полностью восстанавливается [48, 191]. Более оптимистичные данные говорят о том, что каждый пятый инсульт имеет летальный исход, однако до 50% пациентов теряют работоспособность. Инсульт – вторая по частоте причина смерти в России (2006) и лидирующая во многих западных странах [146]. По данным регистров инсульта, в России ежегодно происходит более 450 тысяч ОНМК [55, 56]. Ежегодная смертность от инсультов в России — одна из наиболее высоких в мире. Показатели заболеваемости и смертности от инсульта среди лиц трудоспособного возраста в России увеличились за 10 лет более чем на 30% [15]. Поэтому исследования, посвященные эпидемиологии, влиянию факторов риска, методам профилактики и лечения инсультов являются чрезвычайно востребованными.

Первые исследования, посвященные эпидемиологической статистике инсультов, были начаты в 1970-е годы в странах Западной Европы и Америки, и впоследствии статистический учет числа пациентов с инсультом вошел в клиническую практику в большинстве стран мира. В России первые эпидемиологические исследования относятся к 1970-м годам (НИИ неврологии АМН СССР), и в последующие десятилетия были проведены локальные исследования методом регистра в нескольких городах страны – Москва, Новосибирск, Красноярск, Ижевск, Краснодар. Однако, только в конце 1990-начале 2000-х годов началось создание территориального регистра инсульта по

всей стране, который, согласно рекомендациям ВОЗ, является научной основой организации лечения и медико-социальной реабилитации больных с инсультами и профилактики заболевания [9]. Все случаи ОНМК фиксируются в единой базе данных одновременно во всех регионах, участвующих в программе. Таким образом, в настоящее время есть возможность оценить картину заболеваемости, летальности и инвалидизации вследствие ОНМК в динамике последних 10 лет.

Согласно первым данным, полученным методом регистра на территории России в 2003 году, стандартизованная по возрасту и полу заболеваемость инсультом в России в 2001 г. среди лиц старше 25 лет составила 2,34 на 1000 населения, что сопоставимо с таковой в Москве в 70–80-е годы (от 2,3 до 2,9 на 1000 населения), в Новосибирске (2,5) и Красноярске (2,3) в 90-е годы, в Ижевске в середине 90-х годов (2,5), в Краснодаре в конце 90-х годов (3,05) [16, 53]. Анализ заболеваемости в разных городах России показал колебание ее значений от 2,60 до 5,37. Наиболее высока заболеваемость на северо-западе страны – 7,43, в некоторых городах средней полосы – 5,37 и на Дальнем Востоке – 4,71. В Новосибирском регионе в 2001 году заболеваемость среди мужчин и женщин составила 3,0 и 2,18 на 1000 населения [10], что свидетельствует о стабильности эпидемиологической ситуации. При этом, заболеваемость различными типами инсультов - ишемическим и геморрагическим – составила в среднем по России 1,98:0,6 на 1000 населения, в процентном соотношении – 79,8% от общего числа заболевших страдали ишемическим инсультом, 20,2% - кровоизлияниями в головной мозг и субарахноидальное пространство. Согласно этим показателям, соотношение ишемического и геморрагического инсульта в 2001 году в структуре заболеваемости составила 4:1, причем доля ОНМК по ишемическому типу снизилась по сравнению с данными предыдущего регистра (1990-е годы), согласно которым соотношение двух различных типов инсультов составляло 5:1. С увеличением возраста пациентов отмечено нарастание частоты инсультов от 0,09 на 1000 (25–29 лет) до 15,05 на 1000 (70 лет и старше), что выявлялось и во всех ранее проводимых исследованиях. Соотношение ишемических и геморрагических инсультов в возрастных группах от 25 до 44 лет было

приблизительно одинаковым, однако начиная с возраста 45 лет и старше, доля ОНМК по ишемическому типу нарастает в 2-4 раза [60].

Общая смертность при инсультах в 2001 г. составила 1,28 на 1000 населения, что выше, чем в Москве в 1972–1975 гг. (1,0 на 1000 жителей в год) и значительно выше показателей в экономически развитых странах (0,37–0,47 на 1000 населения). Результаты на региональном уровне практически не отличаются от средних по стране – в Новосибирске 0,9 [10]. Смертность, как и заболеваемость, увеличивалась с возрастом от 0,04 в 30–35 лет до 7,55 в 70 лет и старше. Смертность при ишемическом инсульте преобладала над смертностью при геморрагическом (0,42 и 0,30 на 1000 населения, соответственно), что связано, в первую очередь, с большей частотой встречаемости ОНМК по ишемическому типу.

Общая летальность при ОНМК составила в 2001 г. 40,37%, значительно преобладая при кровоизлияниях в мозг по сравнению с его инфарктами (61,4% и 21,8% соответственно). Этот показатель летальности выше, чем аналогичный, по данным регистров, проводившихся в регионах России в 1990-е годы [10].

В последнее десятилетие эпидемиологическое исследование ОНМК методом регистра получает все большее распространение в большинстве регионов страны. С 2009 г. на территории России начался крупномасштабный проект - эпидемиологическое исследование инсульта методом территориально-популяционного регистра. Исследование рассчитано на 5 лет, 2009-2013 гг., и отражает результаты промежуточного этапа - основные эпидемиологические показатели инсульта: заболеваемость, смертность и летальность за период 2009-2010 гг. Заболеваемость инсультом составила 3,52 случая на 1000 населения в 2009 г. и 3,27 - в 2010 г., что наглядно демонстрирует значительное возрастание частоты встречаемости ОНМК по сравнению с 2001 годом. Как и в ходе первого исследования методом регистра в 2001 году, выявлены значимые различия показателей заболеваемости, смертности и летальности между изучаемыми регионами страны. Максимальная заболеваемость зарегистрирована в Чистополе, Республика Татарстан - 6,14 на 1000 населения, минимальная в течение 2 лет

стабильно удерживалась в Алтайском крае - 1,39 на 1000 человек [57]. В целом, в большинстве регионов эпидемиологическая картина ОНМК соответствует средней по России: в европейской части страны в 2007 году заболеваемость составила от 2,46 до 3,7 на 1000 населения [1, 55], в Кемеровской области – 3,01, в частности, заболеваемость ишемическим инсультом составила 2,36 на 1000 в год [29]. На основании результатов анализа данных регистра в 2006-2009 годах показано, что заболеваемость инсультами в г. Екатеринбурге находилась на высоком уровне: 2,46-3,07 на 1000 взрослого населения, хотя и была ниже среднего показателя по РФ [19].

Согласно результатам промежуточного этапа исследования, смертность от инсульта в 2009 и 2010 годах составила 1,19 и 0,96 на 1000 населения, соответственно [57]. Таким образом, можно констатировать снижение смертности от инсульта в динамике десяти лет. Смертность от всех типов инсультов составила 1,25 на 1000 населения в год в Смоленске, 1,23 в Кемеровской области [29]. По данным регистра инсульта в Екатеринбурге, смертность от ишемического инсульта составила 0,15–0,31 за 2006-2009 годы и превышала смертность от геморрагического инсульта (0,08–0,11) в 3 раза, что ниже показателей по России в целом [19].

Выявлено уменьшение числа геморрагических инсультов (ГИ) в 2009-2010 гг. - отношение ишемических инсультов (ИИ) к ГИ составило 5:1 по сравнению с 4:1 в регистре 2001-2003 гг. [57]. В регистре Екатеринбурга в структуре инсультов преобладал ишемический тип (90,1–91,2%), заболеваемость ИИ составила 2,22–2,76 на 1000 населения и превышала заболеваемость геморрагическим инсультом (0,23–0,30) в 10 раз [56]. По данным госпитального регистра инсульта в Иркутске, ишемический инсульт установлен у 80,6% пациентов [5].

Летальность при инсульте. Согласно результатам работы Пленума Проблемной комиссии «Заболевания центральной нервной системы» (2008) [43], летальность при заболевании ОНМК составляет около 30-35%, к концу первого года погибают до 55-65% больных [5, 20]. В Екатеринбурге с 2006 по 2009 гг. – от 9,5 до 15,4% [56]. Всеми исследователями подчеркивается, что летальность при

ишемическом инсульте в 3-4 раза меньше, чем при кровоизлияниях, так, в Иркутске показатель составил 15,4% и 58,3%, соответственно [46].

Инвалидизация после перенесенного ОНМК имеет фатальный характер. Сведения о числе лиц, утративших трудоспособность и способность к самообслуживанию, весьма противоречивы. Процент инвалидизации в России составляет от 30% до 60%, и в целом не отличается от аналогичного показателя в развитых странах. По данным последних лет, около 10% перенесших инсульт в резидуальной стадии полностью утрачивают способность к самообслуживанию. Стойкий неврологический дефицит в виде парезов конечностей наблюдается приблизительно у половины пациентов, нарушения речи, чтения и письма – у 28%, и почти в 50% случаев развиваются когнитивные нарушения [48].

В структуре последствий ОНМК, наряду с неврологической симптоматикой, имеет место постинсультная депрессия. Являясь самым частым психическим расстройством после инсульта, она оказывает существенное влияние на процесс реабилитации больных [44]. Известно, что развитие таких депрессий замедляет восстановление утраченных неврологических функций и увеличивает смертность больных в течение последующих лет. Постинсультная депрессия на 50% увеличивает риск летального исхода в восстановительном периоде, значительно ограничивает активность в повседневной жизни, усиливает выраженность когнитивных нарушений, утяжеляет течение сопутствующей соматической патологии [26]. В связи с этим, ведение пациентов в остром и восстановительном периоде ОНМК должно осуществляться совместно с врачом-психиатром, однако, в практике такие случаи скорее исключение, чем правило.

Рядом со статистикой утраты трудоспособности вследствие столь частого заболевания, как ОНМК, необходимо упомянуть экономические последствия инсультов. Во всех странах ОНМК является большим социально-экономическим бременем: стоимость лечения одного больного с острым инсультом в странах Европы составляет 1,5-7,5 тыс. долларов в сутки, в США – от 3,3 до 23,8 тыс. долларов на одного пациента, и несмотря на то, что в России эта цифра существенно меньше – всего 400 долларов на один случай лечения, при

заболеваемости 400-450 тысяч человек в год сумма затрат оказывается колоссальной [3].

В нашей стране до сих пор в классификации инсультов существует понятие об инсульте неясной этиологии. Кроме случаев, спровоцированных редкими малоизученными причинами, основной вклад в частоту таких инсультов вносит отсутствие необходимых методов диагностики. По данным российских исследователей, в структуре ОНМК от 2% до 15% и более случаев этиологию инсульта установить невозможно [5]. При этом, процент охвата больных методами нейровизуализации (компьютерная томография и магнитно-резонансная томография) остается недостаточным, по данным 2006 года он не превышал 20%. Ситуация изменяется в лучшую сторону - методы нейровизуализации были проведены для дифференциальной диагностики характера инсульта в 63,1% случаев в 2009 г. и в 74,2% в 2010 г. [57].

Эпидемиология ОНМК за рубежом. В западноевропейских странах, таких, как Великобритания, частота встречаемости инсультов составляет от 2,02 до 1,39 на тысячу населения в разных половозрастных группах. При этом, по данным статистики, за период 1995-2003 годы заболеваемость ОНМК снизилась на 18% среди мужчин и на 24% среди женщин [171]. В структуре ОНМК в британской популяции доля ишемических инсультов выше, чем в России и в среднем в мире, и составляет 85%. Благодаря общедоступности методов нейровизуализации и диагностики, получены сведения о распределении ишемических инсультов по подтипам: кардиоэмболический составил 20%, атеротромботический – 50%, лакунарный – 25%, и только 5% ишемических инсультов были обусловлены иными, более редкими причинами [172]. Как видно, понятие об инсульте неясной этиологии с применением современных диагностических технологий может быть полностью исключено из структуры заболеваемости.

Общее число смертей от ОНМК в Великобритании, по данным 2009 и 2010 годов, составило около 50 000 в год, обусловив приблизительно 7% и 10% от общей смертности среди женщин и мужчин, соответственно. Таким образом, по разным источникам, инсульт как причина смерти занимает 2-4 место. Как

зарубежные, так и российские исследователи отмечают, что наибольшая смертность от ОНМК приходится на геморрагический тип инсульта, где этот показатель может достигать 50% [144].

Эпидемиологическая ситуация с ОНМК в Северной Америке кардинально не отличается от Западной Европы. В США инсульт является третьей по частоте причиной смерти, и обуславливает 9% от общей смертности в стране (4,4 млн. человек). Заболеваемость различными типами инсультов значимо не отличается от других регионов мира. В Канаде инсульт является причиной 7% всех случаев летальных исходов [192].

В Австралии картина заболеваемости ОНМК соответствует общемировой. Показатель встречаемости впервые возникшего инсульта составил 1,61 на 1000 в год в целом, 1,76 для мужчин и 1,46 для женщин. 28-дневная летальность после впервые перенесенного инсульта была 19%. Большинство из них были ишемические – 84%, из них 42% имели кардиоэмболический генез. Мерцательная аритмия встречалась у 36% всех пациентов с ишемическим инсультом, из которых 85% не принимали адекватную антикоагулянтную терапию [127].

В странах Восточно-Азиатского региона, ярким представителем которого является Китай, заболеваемость инсультом колеблется от 2,4 на 1000 населения в провинциях с наибольшей распространенностью до 1,1 в регионах за пределами зон с повышенным риском [183].

Эпидемиологическая обстановка инсульта в странах Африки стала отслеживаться относительно недавно – с конца XX века. За последние 30 лет, согласно данным статистики, произошли позитивные изменения. Уровень смертности от ОНМК в 1989-1991 гг. и в 2008-2010 гг., соответственно, составил 2,5/1,4 и 1,4/0,8 для соотношения мужчины/женщины [170]. Заболеваемость инсультом на этом континенте плохо поддается статистическому учету вследствие низкой доступности медицинской помощи населению.

Факторы риска возникновения инсульта. Как известно, факторы, предрасполагающие к возникновению ОНМК, подразделяются на конституциональные (неконтролируемые) и модифицируемые (контролируемые).

К первым относятся неизменяемые параметры пациента, такие как пол, возраст, отягощенная наследственность, или генетическая предрасположенность, этническая принадлежность. К модифицируемым относят большинство факторов риска – курение, ожирение, алкоголизм, такие состояния и заболевания, как атеросклероз сосудов, гиперхолестеринемию, нарушения сердечного ритма, артериальную гипертензию, ишемическую болезнь сердца. Несмотря на то, что все эти предрасполагающие факторы известны уже много десятилетий, степень их влияния на повышение риска возникновения инсульта остается предметом исследований и дискуссий [93].

Исследователи всего мира единодушны в том, что важнейшими факторами повышенного риска развития ОНМК является возраст [82, 112, 122]. Данные регистров инсульта в России, проведенных в последнее десятилетие, единогласно демонстрируют увеличение заболеваемости инсультов в старших возрастных группах в 3-4 раза и более по сравнению с лицами молодого и трудоспособного возраста. Более того, у пожилых пациентов исходом инсульта достоверно чаще является стойкий неврологический дефицит и инвалидизация, также как и летальный исход. По достижении возраста 55 лет с каждым десятилетием жизни риск возникновения инсульта удваивается [13]. Зарубежные эпидемиологические исследования подчеркивают очень высокий риск возникновения инсульта среди лиц старшего возраста, отягощающими факторами являются полипрагмазия, значительное количество сопутствующих фоновых заболеваний, а также низкая мобильность, вследствие которой медицинская помощь возрастным пациентам с ОНМК часто оказывается на дому и не надлежащим образом [149]. Влияние возраста не зависит от типа инсульта, сходная динамика наблюдается и для инфарктов головного мозга, и для кровоизлияний. Рассматривая заболеваемость инсультов в различных возрастных группах, нельзя не упомянуть о проблеме ОНМК в детском возрасте [148]. Несмотря на кажущуюся низкую заболеваемость – 0,79 на 100000 детского населения в возрасте от 0 до 18 лет, около 70% перенесших инсульт детей имеют стойкий неврологический дефицит, который имеет социально-экономические последствия и негативно сказывается на качестве

жизни [30]. Поэтому необходимо создание лечебно-диагностических алгоритмов для ОНМК в педиатрии, где они до сих пор не определены [22].

Вторым по значимости конституциональным фактором риска ОНМК является половая принадлежность [177]. В многочисленных исследованиях показано преобладание числа мужчин среди заболевших инсультом над женщинами. Согласно результатам мета-анализа, инсульт среди мужчин встречается на 33% чаще, чем среди женщин, и мужской пол является достоверным фактором риска ишемического инсульта [167]. Стандартизованный показатель заболеваемости в России в когорте мужчин на 45% выше, чем у женщин (3,2 и 2,2 случая на 1000 населения). Это соотношение случаев инсульта у мужчин и женщин сопоставимо с таковым в американской, и вдвое выше, чем в западноевропейской популяции [45]. Однако, в связи с тем, что женщины имеют ожидаемую большую продолжительность жизни, в возрастных группах старше 80 лет, количество инсультов у женщин больше. Известно, что несмотря на меньшую заболеваемость, течение острого периода инсульта менее благоприятно для женщин, чем для мужчин, и сопровождается большей летальностью и инвалидизацией. Доля больных с грубыми некорректируемыми неврологическими нарушениями после перенесенного инсульта среди женщин составляет 36,1%, и значительно меньше среди мужчин – 24,2%. Также, для женщин требуется более длительная госпитализация в остром периоде ОНМК и больше времени для реабилитации.

Существуют гендерные различия в отношении заболеваемости подтипами ИИ. Среди женщин чаще встречается кардиоэмболический ишемический инсульт, обусловленный фибрилляцией предсердий; для мужчин наиболее характерными являются атеротромботический и лакунарный подтипы ИИ. У женщин атеросклеротическая окклюзия крупных сосудов мозга отмечается реже, чем у мужчин (в 10 и 26% случаев соответственно). Напротив, причиной инсульта у женщин вдвое чаще является кардиоэмболия сосудов мозга (у 44 и 28% больных, соответственно) [45]. Как видно, гендерные различия в эпидемиологии ОНМК касаются не только частоты встречаемости инсультов в различных

половозрастных группах, но и факторов риска их возникновения: для женщин наибольшее значение имеет нарушение ритма сердца (мерцательная аритмия), для мужчин – атеросклероз сосудов, дислипидемия. В отдельных исследованиях выявлены половые различия в генетических факторах риска ишемического инсульта среди мужчин и женщин [163]. Таким образом, есть все основания для создания и внедрения дифференцированных алгоритмов профилактики и лечения инсультов в соответствии с полом пациента, обеспечивающих соблюдение принципов персонализированной медицины. Однако, сегодня это только планы и перспективы, не имеющие клинического применения.

Этническая принадлежность. Выявлены этнические различия в структуре заболеваемости различными типами инсультов при сравнении популяций русских и казахов. В русскоязычной субпопуляции статистически более часто встречались такие факторы риска, как АГ, атеросклероз сосудов, ишемическая болезнь сердца, тогда как среди казахов чаще, чем у русских, встречались пороки сердца, обуславливающие ИИ [67]. Автор связывает результаты с недостаточной профилактикой заболеваний, ведущих к формированию пороков сердца, среди казахского населения. Важно, что этническая принадлежность напрямую связана с наследственной предрасположенностью и генетическими маркерами повышенного риска ОНМК, поэтому учет этнического фактора необходим при формировании групп риска, диагностике и лечении.

Наследственная предрасположенность. Семейный анамнез таких заболеваний, как ИБС, инсульт, артериальная гипертензия традиционно рассматривается как фактор повышенного сердечно-сосудистого риска. Наличие ОНМК у родственников первой линии достоверно повышает риск инсульта – до 1,5-1,7 по сравнению с пациентами с неотягощенной наследственностью [13]. В последнее десятилетие проведено значительное количество масштабных исследований, посвященных поиску генетических маркеров, влияющих на риск возникновения ОНМК. Обзор результатов и описание кандидатных генов-предикторов возникновения ишемического инсульта представлены в соответствующей главе.

Наряду с конституциональными факторами риска ОНМК, сопровождающими человека всю жизнь, существует огромное число контролируемых факторов, состояний и заболеваний, достоверно увеличивающих риск возникновения инсульта [38]. Рассмотрим самые распространенные из них.

Повышенное артериальное давление. Этот фактор во всем мире признается лидирующим [85, 118]. По данным Всемирной организации здравоохранения, 62% всех инсультов ассоциированы с артериальной гипертензией. Значимое влияние на заболеваемость этот фактор оказывает уже при повышении давления более 115/75 мм рт. ст., и с ростом на каждые 20 мм рт. ст. риск развития ОНМК удваивается [167]). Результаты характеризуют риск для обоих типов инсультов, однако показаны значительные различия во влиянии артериальной гипертензии в зависимости от подтипа ишемического инсульта: АГ обуславливает от 76% до 80% лакунарных инсультов, до 73% атеротромботических, и намного меньшее число кардиоэмболических – 62% [127]. Данная картина отражает особенности патофизиологического воздействия повышенного артериального давления органы-мишени, в основе которого лежит прямое повреждающее действие на сосудистую стенку, а также атерогенный эффект. Очевидно, что при столь значительном вкладе АГ в заболеваемость ОНМК основной задачей профилактики должна быть работа по обеспечению контроля артериальной гипертензии во всех поло-возрастных группах. К сожалению, сегодня эта задача решается далеко не полностью: до 1 трети населения мира страдает АГ, доходя в старших группах до распространенности, близкой к 80-90%. Исследования в России показали, что наиболее распространенным фактором риска инсульта вне зависимости от типа являлась артериальная гипертензия, диагностированная у 95% больных [72]. В различных регионах РФ этот показатель составлял от 77,1% до 97,3% [19].

Сахарный диабет, по данным эпидемиологических исследований, повышает риск развития ОНМК в 2-5 раз вне зависимости от других факторов [18]. Сахарный диабет II типа, кроме влияния на заболеваемость, значительно ухудшает прогноз инсульта, смертность больных от ишемического инсульта в 2-3

раза выше, чем в общей популяции [137]. Это обусловлено, с одной стороны, мощным атерогенным эффектом, ассоциированным с сахарным диабетом, и с другой стороны, отрицательным влиянием гипергликемии на зону ишемии, увеличивающим ее размер.

Фибрилляция предсердий (ФП) является независимым фактором риска развития ишемического инсульта, доказано увеличение относительного риска инсульта от 2,6 до 4,5 раза в зависимости от возрастной группы. В ходе Фремингемского исследования было подсчитано, что риск развития ФП в течение жизни составляет 1:4 для мужчин и женщин в возрасте 40 лет, и ее частота увеличивается с возрастом [156]. Фибрилляция предсердий, как известно, провоцирует кардиоэмболические инсульты, является основным механизмом приблизительно 15% всех ОНМК (или 21-38% инфарктов головного мозга), и обуславливает более высокую смертность и инвалидность, по сравнению с не связанными с ФП ишемическими инсультами. Мерцательная аритмия считается наиболее мощным предиктором ИИ по сравнению с другими факторами риска [167]. Еще одним доказательством значительной роли этого фактора в заболеваемости ОНМК является снижение числа эпизодов эмболии из предсердий при систематическом приеме непрямых антикоагулянтов - антагонистов витамина К. Показано, что регулярный прием варфарина позволяет снизить частоту возникновения ИИ на фоне мерцательной аритмии до 1,66%, или в несколько раз по сравнению с иной терапией или отсутствием таковой [77]. У пациентов, получавших скорректированные дозы варфарина, выявлено снижение относительного риска инсульта на 68%, а абсолютный ежегодный риск снижается с 4,5% до 1,4% [155].

Гиперхолестеринемия. Несколько крупных рандомизированных исследований терапии статинами продемонстрировали связь снижения риска инсульта с понижением уровня липидов крови. Тем не менее, наблюдения проспективных исследований не нашли последовательной связи между уровнем холестерина и заболеваемостью инсультом. Исследование риска у пациентов, страдающих ИБС, показало снижение абсолютного риска инсульта на 2,2% в

связи со снижением уровня холестерина ЛПНП на 53%. Анализ проекта EUROSTROKE не обнаружил ассоциаций повышенного уровня общего холестерина с фатальными, нефатальными, геморрагическими или ишемическими инсультами [83].

Среди модифицируемых факторов риска видное место занимает ожирение. Множеством исследований продемонстрирована связь повышенного индекса массы тела с увеличением риска сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе, ишемической болезни сердца и инсультом. Однако в последние годы стратегия оценки телосложения пациента изменилась. Показано, что главным морбидным фактором является не просто увеличение массы тела, а увеличение окружности талии, или абдоминальное ожирение. Значение окружности талии более 80 см у женщин и более 94 см у мужчин ассоциировано с возникновением артериальной гипертензии [109, 153], которая уже сама по себе является ведущим фактором риска сердечно-сосудистых катастроф. Нужно отметить, что при изучении ожирения и повышенной массы тела в качестве фактора риска инсульта, отсутствует акцент на конкретный тип ОНМК, что связано с полиэтиологическим воздействием ожирения на патогенез сердечно-сосудистых заболеваний [65].

Питание. В XX веке риски, возникающие для здоровья человека от избыточного употребления в пищу соли, стали общеизвестными. Причинная связь между привычным употреблением пересоленной пищи и артериальной гипертензией была установлена с помощью большого числа масштабных исследований. Для большинства взрослого населения во всем мире средние суточные дозы соли составляют более, чем 6 г, а для многих в Восточной Европе и Азии выше, чем 12 г. Международные рекомендации предполагают, что среднее потребление соли населением должно быть менее 5-6 г в день. Снижение потребления соли населением достоверно ассоциировано с 23%-ным снижением частоты инсульта и 17% общего уменьшения распространенности сердечно-сосудистых заболеваний [169].

В последние годы в качестве основы режима питания пациентов групп риска по развитию ИБС, ОНМК рекомендуется так называемая

средиземноморская диета [63]. Эта схема питания характеризуется высоким уровнем потребления мононенасыщенных жиров (главным образом оливкового масла), растительных белков, цельного зерна, рыбы, очень умеренное потребление алкоголя, и низким потреблением красного мяса, очищенного зерна и кондитерских изделий. Соблюдение средиземноморской диеты связано с более низким риском заболеваемости ИБС и инсультом: у женщин на 22%, у мужчин – на 19% [101].

Алкоголизм. Потребление этанола в больших количествах традиционно рассматривается как фактор риска в отношении ОНМК и сердечно-сосудистых заболеваний в целом. В России этот фактор имеет большую медико-социальную значимость, подтвержденную исследователями из Новосибирска [134] Риск смерти от сердечно-сосудистых заболеваний достоверно увеличен в случае частого приема больших доз алкоголя (относительный риск 2,05), но не обязательно связан с эпизодическим его употреблением (риск составил от 1,05 до 1,27). Показано, что степень риска инсульта при употреблении алкоголя имеет половозрастные различия. Для женщин количество потребляемого алкоголя может быть основным фактором, определяющим риск развития сердечно-сосудистых заболеваний, в то время как среди мужчин, частота приема, а не объем, является более важным [174].

Курение. Этот фактор риска ОНМК известен так же давно, как артериальная гипертензия, нарушения сердечного ритма, ИБС и является, пожалуй, самым модифицируемым, поскольку влияние курения на организм человека может быть полностью исключено в течение жизни, в отличие от других ко-морбидных состояний. Отказ от курения полностью оправдан результатами обширного мета-анализа [165], согласно которым, относительный риск возникновения инсульта для курильщиков равен 1,5, а риск развития ИИ еще выше – 1,9. Повышенный риск инсульта отмечен также у лиц, куривших в прошлом (1,2), выявлена зависимость степени влияния курения на риск в зависимости от возраста: среди лиц моложе 55 лет – 2,9, в старших возрастных группах риск составил от 1,8 до 1,1. Результаты более поздних исследований во многом повторяют полученные.

Кроме того, показана взаимосвязь ишемического инсульта с пассивным курением, на примере членов семей курильщиков, относительный риск составил 2,03 [187]. Таким образом, курение – один из важнейших факторов риска развития инсульта, в том числе, ишемического, который необходимо устранять как наиболее зависящий от воли пациента.

В последние годы показано, что в развитии факторов риска и возникновении сопутствующих им осложнений большую роль играют нарушение равновесия анти- и прооксидантных систем и развитие окислительного стресса [36]. Свободные радикалы образуются в организме несколькими путями, в том числе под влиянием эндогенных факторов и факторов окружающей среды. Активные формы кислорода, в первую очередь O_2^- , вырабатываются во всех клетках как звено аэробного метаболизма и принимают активное участие в физиологических процессах, в том числе в уничтожении микроорганизмов и неопластических клеток, в дыхательной цепи митохондрий, окислительных реакциях нейтрофилов и в регулировании активности разных ферментов. Активные формы кислорода обеспечивают регуляцию клеточного роста и дифференциацию. Ряд сигнальных систем, в том числе связанных с фосфорилированием белков и их конформацией, с функционированием ионных каналов сосудистой стенки, находятся под сочетанным контролем анти- и прооксидантных систем. Эти системы влияют на активность ряда генов – в частности генов, регулирующих синтез белков адгезии и синтазу оксида азота (NO), генов, принимающих участие в воспалительном процессе и активации определенных клеточных рецепторов. Нарушение равновесия между прооксидантами и антиоксидантами обозначается как окислительный стресс. Окислительный стресс сопровождается различными биохимическими нарушениями и является важной причиной прогрессирования атеросклероза, АГ, СД и других заболеваний. При окислительном стрессе происходят разнообразные повреждения структурных компонентов клетки: липидов, белков и нуклеиновых кислот. Свободные радикалы инициируют реакции белков с другими компонентами клетки, вызывая фрагментацию белковых молекул и нарушение их

функций [36]. Таким образом, окислительный стресс является универсальной реакцией организма на патологические процессы, и его выраженность во много определяет течение и исход заболеваний. Исследования, посвященные выявлению маркеров окислительного стресса при ишемическом инсульте, свидетельствуют о прямой связи наличия окисленных метаболитов в крови с ухудшением прогноза при различных подтипах ИИ, а также о высокой диагностической значимости таких маркеров [32].

Исходя из изложенных сведений об окислительных метаболитах, можно предположить наличие генетически обусловленных особенностей протекания реакций окисления в клетках. Фундаментальные исследования уже имеют тому подтверждения, однако наиболее интересным представляется изучение генетических маркеров усиленного оксидантного стресса в качестве предикторов сосудистых заболеваний и ишемического инсульта. В зарубежной литературе имеются указания на ассоциации развития ИИ и более тяжелого его течения с носительством полиморфных вариантов генов глутатион-пероксидазы GPX [178], гипоксия-индуцированного фактора HIF1 α [166], НАДФ-Н оксидазы p22phox [98], марганцевой супероксид дисмутазы MnSod [100]. Важно отметить, что носительство данных полиморфных вариантов является фактором риска не только собственно ишемических инсультов, но и других заболеваний сердечно-сосудистой системы, ведущих к возникновению ОНМК.

Несмотря на то, что в отношении ОНМК известно огромное число факторов риска, большинство которых являются управляемыми, эпидемиологическая ситуация не улучшается. По мнению российских исследователей, причина кроется в низкой комплаентности пациентов, уже перенесших инсульт, и лиц из групп риска. Единственными модифицируемыми факторами риска, частота профилактических мероприятий в отношении которых превысила половину, являются артериальная гипертензия и сахарный диабет (89% и 63%, соответственно). Целый ряд факторов вообще не был затронут мерами вторичной профилактики (нарушения сердечного ритма, дислипидемия и др.). Отмечается, что приверженность пациентов рекомендованной терапии снижается уже через 2

месяца с момента заболевания [8]. Эти результаты свидетельствуют о чрезвычайно низкой информированности населения о целях и мерах профилактики инсульта, которая не может не сказываться на картине заболеваемости в целом.

1.2. Методы диагностики инсульта в России и за рубежом

Диагноз ишемического ОНМК основывается на остром развитии неврологических нарушений, характерных для поражения одного из сосудистых бассейнов мозга, а также наличии факторов риска его развития (возраст старше 50 лет, курение, артериальная гипертензия, сахарный диабет, мерцательная аритмия и др.), которых, однако, может не быть. Характерная клиническая картина определяется изменениями в неврологическом статусе, которые можно объективизировать, используя различные системы оценки состояния больного по сумме баллов. Наиболее распространена Шкала инсульта Национального института здоровья (NIH), 1989, позволяющая объективно отслеживать неврологический статус в динамике; для постановки диагноза подтипа ишемического ОНМК общепризнано использование патогенетической классификации TOAST [50].

Важное значение имеет проведение нейровизуализации – рентгеновской компьютерной или магнитно-резонансной томографии (КТ или МРТ) головы, что позволяет с высокой точностью отличить ишемическое ОНМК от кровоизлияния в мозг или других заболеваний (например, опухоли мозга или черепно-мозговой травмы), которые могут проявляться острым развитием неврологических нарушений [133].

КТ выявляет область пониженной плотности у большинства больных через 12-24 ч с момента развития ишемического инсульта. Однако небольшие по размеру инфаркты мозга (инфаркты в стволе мозга и лакунарные инфаркты) часто не выявляются при КТ головы даже на 3-4-й день с момента ишемического инсульта (период наилучшей визуализации инфаркта мозга методом КТ), но

могут быть обнаружены при МРТ [106]. С развитием технического оснащения, метод МРТ открывает возможности не только анатомической нейровизуализации, но и структурно-функциональной оценки состояния церебральной гемодинамики. Определение скоростных характеристик потока крови в каротидном и вертебро-базилярном бассейнах, исследование с контрастированием и другие исследовательские методы дают врачу максимально полную информацию об очаге поражения [92].

Если нет возможности выполнить КТ или МРТ головы, то проводят люмбальную пункцию и эхоэнцефалоскопию. Отсутствие крови в ликворе и смещения срединных структур мозга при эхоэнцефалоскопии также подтверждает диагноз ишемического ОНМК, однако при этом вероятность ошибки составляет не менее 10%.

В план обследования больных входят также общий и биохимический анализ крови, общий анализ мочи, рентген легких и ЭКГ. В последние годы ведется интенсивный поиск лабораторных маркеров и критериев развития инфаркта мозга либо геморрагического инсульта. Показано, что уровень D-димера в плазме крови значительно увеличивается вне зависимости от типа ОНМК, однако, чувствительность и специфичность диагностического метода в данном случае очень малы [111].

Дуплексное сканирование внечерепных артерий позволяет выявить их атеросклеротическое поражение, а транскраниальная доплерография – закупорку или стеноз внутричерепных артерий. Определить поражение мозговых артерий позволяет также рентгеноконтрастная ангиография, однако ее проведение связано с риском осложнений, поэтому она используется только в определенных случаях (например, когда планируется оперативное удаление атеросклеротической бляшки из сонной артерии). У больных с предположительно кардиоэмболическим ОНМК имеют важное значение эхокардиография, холтеровское мониторирование и другие методы исследования сердца.

1.3. Лечение ишемического инсульта

Как известно, любое заболевание легче предотвратить, чем лечить. ОНМК – не исключение из этого правила. Однако, сложности первичной профилактики ишемических инсультов заключаются в огромном количестве факторов риска, которые необходимо контролировать. Как упоминалось, залогом снижения риска развития инсульта является тщательный контроль течения всех хронических заболеваний, отказ от вредных привычек, соблюдение здорового образа жизни. Особого внимания заслуживают лица из групп повышенного риска – имеющие немодифицируемые факторы предрасположенности и их сочетания. Не вызывает сомнений, что пациентам из групп риска необходима соответствующая терапия, однако до развития сосудистой катастрофы они не попадают во внимание неврологов, и лечение на этапе первичной профилактики осуществляют врачи других профильных специальностей.

Однако, с момента возникновения ОНМК лечение больного проводит невролог. Наиболее эффективным и перспективным является экстренная госпитализация в специализированное инсультное отделение, оборудованное томографами для нейровизуализации и рентгеноперационной; оказывать помощь в таком отделении должны специалисты-нейрореаниматологи.

В случае поражения по ишемическому типу, при окклюзии сосудов тромбом или эмболом, современным методом экстренного патогенетического лечения является терапевтическая реперфузия. Проблема терапевтической реперфузии чрезвычайно сложна. Реперфузия при острой фокальной ишемии мозга наиболее эффективна в первые минуты развития инсульта. По современным клинико-исследовательским данным, целесообразность терапевтической реперфузии сохраняется в пределах 3–6 ч, наиболее предпочтительно – до 4,5 ч [50]. Затем при ее применении значительно нарастает риск не только реперфузионного повреждения, но и геморрагических осложнений. Таким образом, реперфузия должна быть ранней, по возможности активной и кратковременной.

Характер реперфузионной терапии определяется патогенетическим вариантом развития инсульта. При тромботическом или эмболическом поражении артерий среднего и крупного калибра терапией выбора является тромболизис [88]. Существуют 2 принципиальные методики проведения тромболизиса – внутривенный и селективный внутриартериальный. В многочисленных исследованиях доказана эффективность системного введения тромболитического препарата – рекомбинантного тканевого активатора плазминогена (rt-PA) при его введении в первые 3 ч после развития инсульта, особенно в первые 90 мин, в дозе 0,9 мг/кг. Препарат позволяет добиться достоверной реканализации пораженного сосуда. Несмотря на риск развития ранних геморрагических осложнений, 90-дневная летальность в группе "rt-PA" была достоверно ниже, чем в группе плацебо (соответственно 17 и 21%). Позже было показано, что при очень обширной ишемизированной территории (раннее появление на КТ обширного отека или зон гиподенсивности), а также при наличии у больного сахарного диабета тромболизис не нормализует мозговой кровоток и не улучшает прогноз заболевания [49].

В то же время исследования показали, что при ангиографически подтвержденной окклюзии средней мозговой артерии интраартериальное введение алтеплазы в дозе до 20 мг улучшало исход заболевания (в пределах 3 мес наблюдения) и при отсроченном на 6 ч от начала острого ишемического инсульта применении. Это свидетельствовало о том, что тромболитическая терапия может быть эффективна за пределами 3-часового диапазона в случае тщательного отбора пациентов [126].

Установлено, что тромболизис не показан при микроциркуляторных и гемодинамических инсультах. Кроме того, введение тромболитических препаратов имеет значительное число противопоказаний, которые существенно ограничивают возможности реперфузионной терапии. По данным международных обзоров, только 1–2% больных с ишемическим инсультом получают тромболитическую терапию [49], хотя даже при условии соблюдения 3-часового диапазона введения этот показатель мог быть выше (до 5–10%).

Следует отметить, что даже при наличии противопоказаний необходимо использовать антикоагулянтную терапию в случае развития ДВС-синдрома. Предпочтительно назначение прямых антикоагулянтов - низкомолекулярных гепаринов (эноксапарина, надропарина, дальтепарина) в течение первых 2–5 дней заболевания (первые 24 часа антикоагулянты и антиагреганты противопоказаны 3-за высокого риска кровоизлияний). Обязателен лабораторный контроль за действием гепарина: время кровотечения должно удлиниться в 1,5–2 раза, активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) не должно увеличиваться более, чем в 2 раза.

За 1–2 дня до окончания курса гепаринотерапии целесообразно постепенное снижение доз используемых препаратов под прикрытием антикоагулянтов непрямого действия, прием которых продолжается последующие 3–4 нед. Наиболее эффективно применение варфарина в дозе 2–5 мг/сут, особенно при длительной предшествующей терапии гепарином, при наличии мерцательной аритмии, после протезирования клапанов сердца или при сопутствующем инфаркте миокарда. Следует помнить, что лечение антикоагулянтами непрямого действия также необходимо проводить под строгим лабораторным контролем показателей коагулограммы, главным из которых в данном случае является международное нормализованное отношение (МНО).

Гемодилюция проводится низкомолекулярными декстранами (реополиглюкин, реомакродекс по 250–500 мл внутривенно капельно). Основным критерием эффективности гемодилюции является снижение уровня гематокрита до 30–35%.

Сравнительное сопоставление влияния различных антитромбоцитарных препаратов показало высокую эффективность ацетилсалициловой кислоты в дозе 1 мг/кг/сут при отсутствии достаточного антиагрегационного эффекта меньших доз препарата, что связано с недостаточным их влиянием на цАМФ и концентрацию простаглицлина. При непереносимости АСК возможно назначение клопидогреля или дипиридамола. Установлена также достоверная эффективность пентоксифиллина, оказывающего комплексное реологическое действие,

направленное не только на уменьшение агрегационной способности тромбоцитов, но и на улучшение деформируемости мембран эритроцитов и нормализацию микроциркуляции в целом.

Позитивное влияние на состояние церебральной гемодинамики оказывает винпоцетин. Анализ 20-летнего опыта применения препарата показал, что винпоцетин обладает избирательным вазодилатирующим и антивазоконстрикторным действием на мозговые сосуды, ингибирует агрегацию и адгезию форменных элементов крови, а также способствует улучшению окислительно-восстановительных процессов в ткани головного мозга, усилению транспорта глюкозы и повышению ее утилизации, нормализации энергетического метаболизма. Срок парентерального введения препарата составляет 7–10 дней (в некоторых случаях до 21 дня), дальнейшее лечение продолжают таблетированными формами винпоцетина в дозе 5–10 мг (1–2 таблетки) 3 раза в сутки в течение 1–4 мес [14].

Нейропротекция. Проведение активной реперфузионной терапии возможно лишь в стационаре, после нейровизуализирующего исследования (КТ/МРТ головного мозга), позволяющего исключить геморрагический компонент поражения, оценить размеры ишемизированной территории и патогенетический вариант инсульта. Это оттеняет преимущества другого направления терапии – нейропротекции (цитопротекция, метаболическая защита мозга), которая может использоваться на догоспитальном этапе при появлении первых симптомов инсульта, даже при возможном геморрагическом его характере. По сравнению с реперфузией нейропротективная терапия более сложна и отражает разнообразие механизмов ишемического повреждения ткани мозга. Практически для каждого этапа ишемического каскада был разработан и прошел испытания хотя бы один препарат – нейропротектор. По данным экспериментальных и клинических исследований, раннее применение нейропротекторов позволяет увеличить долю транзиторных ишемических атак и "малых" инсультов среди острых нарушений мозгового кровообращения по ишемическому типу, значительно уменьшить размеры инфаркта мозга, удлинить период "терапевтического окна", расширяя

возможности для тромболитической терапии, осуществлять защиту от реперфузионного повреждения.

Выделяют первичную нейропротекцию, направленную на прерывание быстрых реакций глутамат-кальциевого каскада, свободнорадикальных механизмов. Этот вид нейропротекции должен начинаться с первых минут ишемии и продолжаться на протяжении первых 3 дней инсульта, особенно активно в первые 12 ч [14]. Препаратом, блокирующим NMDA-зависимые каналы потенциалзависимым способом, являются ионы магния. Согласно данным международного исследования IMAGES Study Group, в котором принимали участие 69 центров, применение магния сульфата в дозе 65 ммоль/сут не только безопасно в плане развития нежелательных побочных явлений, но и позволяет достоверно увеличить долю больных с хорошим неврологическим восстановлением и снизить частоту неблагоприятных исходов ишемического инсульта [80].

Естественным активатором тормозных нейротрансмиттерных систем является препарат аминокислоты глицина, обладающий многокомпонентным противоишемическим действием [49]. Он является тормозным нейротрансмиттером, а также универсальным конъюгатом низкомолекулярных токсичных соединений, в большом количестве образующихся в ишемических каскадах. Применение глицина в первые дни инсульта в дозе 20 мг/кг массы тела (в среднем 1,0–2,0 г в сутки) позволяет обеспечить противоишемическую защиту мозга у больных с различной локализацией сосудистого поражения и разной тяжестью состояния. Также было установлено уменьшение объема инфаркта мозга на фоне применения глицина с минимальным кистообразованием.

Вторичная нейропротекция направлена на уменьшение выраженности отдаленных последствий ишемии: на блокаду провоспалительных цитокинов, молекул клеточной адгезии, торможение прооксидантных ферментов, усиление трофического обеспечения, прерывание апоптоза. Она может быть начата спустя 3–6 ч после развития инсульта и должна продолжаться по меньшей мере 7 дней.

Применение антиоксидантов (унитиол, токоферолы, эссенциале) используется в терапии ишемического инсульта с целью оптимизации окислительно-восстановительных процессов [47, 71]. В проведенных экспериментальных и клинических исследованиях высокую эффективность показал препарат мексидол. При внутривенном капельном введении в дозе от 100 до 1000 мг/сут мексидол оказывает выраженный антиоксидантный эффект, повышая активность эндогенной антиоксидантной системы и уменьшая выраженность свободнорадикальных процессов. Клиническая эффективность мексидола проявляется существенным регрессом расстройств сознания и значительно более быстрым по сравнению с группой плацебо восстановлением двигательных функций и редукцией признаков вазомоторной нестабильности [54].

Важным направлением нейропротективной терапии является применение препаратов с нейротрофическими и нейромодуляторными свойствами. Одним из наиболее известных препаратов нейротрофического ряда является церебролизин, представляющий белковый гидролизат вытяжки из головного мозга млекопитающих, активное действие которого обусловлено фракцией низкомолекулярных пептидов. Применение церебролизина при острой церебральной ишемии способствует лучшему выживанию нейронов в зоне ишемической полутени и торможению отсроченной гибели нейронов [21]. Оптимальной суточной дозой препарата у больных с ишемическим инсультом средней тяжести является 10 мл, при тяжелых инсультах – 20 мл внутривенно капельно на протяжении 7–10 дней заболевания (возможно дальнейшее продолжение курса в виде внутримышечных инъекций по 5 мл в день до 21-х суток заболевания).

В НИИ молекулярной генетики РАН был создан синтетический аналог фрагмента АКТГ (4–10) – препарат семакс, представляющий собой гептапептид (Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro), лишенный гормональной активности. Семакс является эндогенным регулятором функций ЦНС и обладает нейромодуляторной и нейротропной активностью, а также ярко выраженным ноотропным эффектом. Проведенные клинические исследования показали, что включение семакса в

комплекс интенсивной терапии острого полушарного ишемического инсульта снижает показатели ранней летальности, оказывает благоприятное действие на выраженность и темпы восстановительных процессов, способствуя ускорению регресса общемозговых и очаговых, особенно двигательных, нарушений [61].

В случаях превалирования в клинике очагового неврологического дефицита показано назначение больным ноотропных препаратов (производных ГАМК), активирующих энергетический метаболизм и окислительно-восстановительные процессы в мозге [76]. Особенно эффективны ноотропные препараты при ограниченных корковых очагах ишемии, клинически проявляющихся расстройствами высших психических функций (прежде всего речевых) и двигательным дефицитом. Изучение дозозависимой эффективности показало, что оптимальные дозы пирацетама в первые 10–15 дней ишемического инсульта – от 6 до 12 г в сутки при внутривенном введении. Для достижения максимального клинического эффекта рекомендуется длительное применение препарата (с 15-го дня – пероральный прием в дозе 4,8 г/сут на протяжении 1–1,5 мес), учитывая отсроченное нейротрансмиттерное действие ноотропила, повышающее пластичность нервной ткани.

Репаративная терапия. Начиная с первых дней заболевания, после формирования морфологических инфарктных изменений в веществе мозга, все большее значение приобретает репаративная терапия, направленная на улучшение пластичности здоровой ткани, окружающей область инфаркта, активацию образования полисинаптических связей, увеличение плотности рецепторов [159].

Одним из высокоэффективных антиоксидантов, способствующих активации церебральных и мультиорганных реституционных механизмов, является актовегин. Магний входит в актовегин как компонент нейропептидных фрагментов и ферментов, являясь их каталитическим центром. При неотложных состояниях актовегин доказал свою эффективность в дозах 1000–2000 мг в сутки (целесообразно использовать 10–20% инфузионный раствор актовегина по 250–500 мл в сутки). α -Глицерилфосфорилхолин – соединение, содержащее 40% холина и превращающееся в организме в метаболически активную форму

фосфорилхолин, способный проникать через гематоэнцефалический барьер и активировать биосинтез ацетилхолина в пресинаптических мембранах холинергических нейронов. Клинические исследования α -глицерилфосфорилхолина в остром периоде ишемического инсульта (внутривенные введения в дозе 1 г 3–4 раза в сутки в течение 5 дней) выявили благоприятное влияние препарата на клиническую динамику, особенно на психическую деятельность больных, память, восстановление речевых функций [58].

Важно отметить, что терапия острого ишемического инсульта включает и компоненты его вторичной профилактики. Особенно актуальной вторичная профилактика становится со 2-й недели заболевания, когда значительно нарастает риск повторных сосудистых эпизодов. Суммируя подходы к вторичной профилактике, можно определить ее стратегию: индивидуальный выбор программы профилактических мероприятий; дифференцированная терапия в зависимости от типа и клинического варианта перенесенного инсульта; комбинация различных терапевтических воздействий. Основными критериями, определяющими выбор метода вторичной профилактики, являются:

- анализ факторов риска инсульта;
- патогенетический тип инсульта, как настоящего, так и перенесенных ранее, если таковые имелись;
- результаты инструментального и лабораторного обследования, включающего оценку состояния магистральных артерий головы и внутримозговых сосудов, состояния сердечно-сосудистой системы, реологических свойств крови и гемостаза;
- сопутствующая терапия.

К числу наиболее значимых профилактических мероприятий относятся контроль артериального давления, глюкозы и липидов крови с коррекцией выявленных изменений. Наиболее важным и доказанным направлением вторичной профилактики является длительное (часто пожизненное) применение истинных антиагрегантов: аспирин, клопидогреля, дипиридамола. При

выявлении гемодинамически значимых стенозов сонных артерий, а также при наличии в них эмбологенных атеросклеротических бляшек необходима консультация сосудистого хирурга для решения вопроса о хирургической профилактике повторного нарушения мозгового кровообращения [25, 33].

Выбор конкретного препарата осуществляется на основании безопасности, индивидуальной переносимости пациента и сопутствующих противопоказаний для применения того или иного лекарственного средства. Рассмотрим направления вторичной профилактики более подробно.

Антигипертензивная терапия. Применение гипотензивных препаратов у пациентов, перенесших церебральный инсульт, должно приводить не только к снижению уровня АД до целевых значений у пациентов с артериальной гипертонией (АГ), но и предотвращению дальнейшего ремоделирования и гипертрофии сосудистой стенки, прогрессированию атеросклеротического повреждения, в том числе и у пациентов с нормальным уровнем АД. Этим критериям в полной мере соответствуют ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) и блокаторы рецепторов ангиотензина II 1-го типа (АРА) [58].

Ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента. Выбор ингибитора АПФ для вторичной профилактики инсульта был обусловлен тем, что препараты этой группы хорошо переносятся пациентами, не вызывают постуральную гипотензию, обладают доказанными протективными сосудистыми эффектами. Ранее проведенные исследования HOPE, EUROPA, FACET, LIVE убедительно показали эффективность препаратов этой группы (рамиприл, моноприл, эналаприл) в первичной профилактике сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с ишемической болезнью сердца и атеросклерозом. Результаты исследования PROGRESS показали, что активная терапия периндоприл ± индапамид достоверно снижает риск повторного инсульта на 28% [52]. В настоящее время доказана эффективность и других препаратов данной фармакологической группы в отношении вторичной профилактики повторных ОНМК.

Блокаторы рецепторов ангиотензина II. В 2004 г. опубликованы результаты международного исследования MOSES, в котором проводили оценку эффективности блокатора АРА эпросартана мезилата и блокатора кальциевых каналов нитрендипина в предупреждении повторного инсульта и прогрессирования когнитивных нарушений у пациентов с церебральными нарушениями на фоне АГ. Достоверное снижение сердечно-сосудистых (на 21%) и цереброваскулярных осложнений (риска повторного инсульта и ТИА на 25%) наблюдалось в группе пациентов, принимающих эпросартана мезилат. Эти результаты позволили в дальнейшем обсуждать органопротективные свойства и действие на эндотелиальную функцию препаратов, оказывающих влияние на ренин-ангиотензин-альдостероновую систему, – ингибиторов АПФ и блокаторов АРА [58]. Таким образом, на сегодняшний день АРА II эпросартан является гипотензивным препаратом с доказанной эффективностью в отношении предупреждения повторного церебрального инсульта, не только у лиц, страдающих гипертонией, но и у нормотоников.

Антитромботическая терапия. Важная роль в патогенезе ОНМК отводится атеротромбозу и изменениям реологических свойств крови, в том числе повышению агрегационной способности тромбоцитов и эритроцитов [113]. На долю атеротромботических инсультов приходится 30–50% от общего числа ишемических инсультов. В связи с этим не вызывает сомнения, что основным направлением вторичной профилактики инсульта у пациентов, перенесших ишемический инсульт, является антитромботическая терапия. Было показано, что длительный прием антиагрегантных средств (в течение месяца и более) уменьшает риск серьезных сосудистых эпизодов (инфаркт миокарда, инсульт, сосудистая смерть) на 25%. Согласно современным представлениям, различные антиагрегантные препараты обладают примерно одинаковым профилактическим действием [86]. С учетом того фактора, что эффекты используемых антитромбоцитарных средств значительно не различаются, в основе выбора препарата должны лежать их безопасность, наличие побочных действий, а также особенности гемостаза у конкретного пациента.

Ацетилсалициловая кислота (АСК) является “золотым стандартом” и препаратом первого выбора вторичной профилактики ишемических осложнений атеросклероза. Проведено более 65 проспективных рандомизированных контролируемых исследований в странах Европы и Северной Америки (SPAF-I, SPAF-II, PPP, TPT, MAST-1, IST, CAST, SALT, CATS, CAPRIE, MATCH, CHARISMA и др.), доказавших терапевтическую и профилактическую эффективность АСК у пациентов с различными проявлениями сердечно-сосудистой патологии [120]. Наиболее эффективной и одновременно безопасной дозой в рекомендациях признается 100 мг в сутки; с увеличением дозировки развиваются дозозависимые побочные эффекты, наиболее серьезным из которых является желудочно-кишечное кровотечение. Средние дозы аспирина (75–200 мг в день) рекомендуются большинству пациентов с перенесенными ТИА или ишемическим инсультом, и эта терапия должна быть пожизненной.

Дипиридамо́л, относящийся к производным пиримидина и обладающий, главным образом, антиагрегантным и ангиопротекторным действием, является эффективным препаратом второй линии, применяемым для вторичной профилактики инсульта, в случае непереносимости АСК. Результаты исследований показали, что монотерапия дипиридамолом достоверно уменьшала риск развитие повторного НМК на 20,1%, в то время как применение АСК – на 24,4%. В то же время комбинированная терапия оказалась более эффективной, чем каждый препарат в отдельности, что подтверждает синергизм их действия: сочетанная терапия АСК (50 мг) и дипиридамолом (150 мг) уменьшает относительный риск повторного инсульта и ТИА на 37 и 35,9% соответственно, и так же может быть терапией первого выбора. Дипиридамо́л в монотерапии применяется в дозе 75–225 мг в сутки, при уменьшении дозы препарата не теряется его профилактический эффект, улучшается переносимость препарата и повышается приверженность к лечению [50].

Клопидогрель – селективный неконкурентный антагонист рецепторов тромбоцитов к АДФ, обладающий способностью ингибировать агрегацию тромбоцитов экзогенным АДФ и предотвращать стимулирующее влияние других

субстанций, вызывающих агрегацию. Результаты исследований показали, что клопидогрель в дозе 75 мг в сутки несущественно, но все же более эффективен для снижения сочетанного риска сосудистых событий, чем АСК; так, риск развития сосудистых событий при терапии клопидогрелем составил 5,32% в год, а при терапии АСК – 5,83%. Было высказано предположение, что сочетанное лечение АСК с клопидогрелем может иметь преимущества перед монотерапией антиагрегантами. Однако, число жизнеугрожающих побочных эффектов в 2 раза превысило таковое при монотерапии клопидогрелем. Эти результаты не позволяют рекомендовать сочетанное применение клопидогреля и АСК в широкую клиническую практику [95].

Второй значимой причиной развития ишемического инсульта являются тромбозы из полостей сердца, сопровождающие течение мерцательной аритмии, при этом риск повторного ИМК составляет 12% в год. Для длительной вторичной профилактики после перенесенного ТИА или ишемического инсульта у пациентов с мерцательной аритмией используются антикоагулянтные препараты, при этом средством выбора является непрямой антикоагулянт варфарин, показавший свою эффективность при первичной профилактике сосудистых событий у пациентов с высоким риском тромботических осложнений. Было проведено несколько крупнейших исследований, которые определили тактику антитромботической терапии у пациентов с мерцательной аритмией, перенесших ишемический инсульт, и доказали превосходство антикоагулянтов перед АСК [52]. Объективным критерием эффективности антикоагулянтной терапии является поддержание международного нормализованного отношения (МНО) в интервале 2,0–3,0, что соответствует снижению риска развития ишемического инсульта на 80% по сравнению с таковым при МНО < 2,0.

Значимым фактором риска развития атеросклероза и его ишемических осложнений является высокий уровень холестерина в плазме крови [66]. Гиполипидемические препараты хорошо зарекомендовали себя в кардиологической практике в качестве препаратов первичной и вторичной

профилактики инфаркта миокарда. Однако, роль статинов в предупреждении развития инсультов не столь однозначна, поскольку не обнаружено четкой корреляции между частотой развития инсультов и уровнем холестерина в крови. Анализ четырех крупнейших исследований эффективности гиполипидемической терапии для вторичной профилактики ИБС показал, что под влиянием терапии статинами отмечается снижение суммарной частоты инсультов. Наряду с достоверным уменьшением коронарной смертности и частоты инфаркта миокарда было отмечено снижение риска развития инсульта на 31%, хотя частота смертельных эпизодов НМК не изменилась [58]. Следует обратить внимание, что все данные, на которых базируется необходимость применения статинов для предупреждения церебральных инсультов, получены из исследований, главной целью которых является выявление снижения частоты коронарных эпизодов. При этом, как правило, проводится анализ влияния терапии статинами на снижение суммарной частоты инсульта без учета анамнестических данных о том, является ли этот инсульт первичным или повторным.

Хирургическое лечение ОНМК. Все больше внимания уделяется хирургическим, а также сочетанным (усиленный тромболизис) методам экстренного лечения пациентов с атеротромботическим или кардиоэмболическим инсультом. Наибольшее распространение получили эндоваскулярные методы – механическая тромбэктомия, аспирация тромба, ангиопластика, технологии стентирования [94]. В последние годы получены убедительные данные о преимуществах каротидной эндартерэктомии (КЭАЭ) по сравнению с консервативным лечением для пациентов с гемодинамически значимым сужением сонных артерий (более 75% просвета сосуда) [17]. В исследованиях ESCT и NASCET было показано, что риск развития мозгового инсульта при хирургических вмешательствах уменьшается с 26 до 9% ко 2-му году и с 16,8 до 2,8% к 3-му году, отмечено снижение 10-летней смертности от сердечно-сосудистых событий на 19% среди пациентов, подвергшихся каротидной эндартерэктомии [94]. Проведение КЭАЭ рекомендовано в стационарах, где риск операционных осложнений составляет менее 6%.

Нерешенные вопросы вторичной профилактики. Несмотря на известные методы вторичной профилактики, удастся предотвратить примерно 1/3 повторных нарушений мозгового кровообращения [50]. Это может быть связано с недостаточным использованием методов нейровизуализации и сердечно-сосудистой диагностики, определяющих характер перенесенного инсульта, а также с неадекватным выбором современных препаратов, позволяющих безопасно обеспечивать контроль над артериальным давлением, гемостазом, уровнем липидов в крови и т.д. Еще одним фактором, ограничивающим эффективность существующего подхода к предотвращению повторных ОНМК, является использование только одного из направлений вторичной профилактики, в то время как наибольшего результата можно достигнуть при использовании комплекса профилактических мероприятий. Кроме того, нельзя забывать о коррекции образа жизни и немедикаментозной терапии, которым часто не уделяется должное внимание.

1.4. Новые направления персонализированной медицины

Население мира недавно превысило 7 миллиардов человек, и поскольку стоимость секвенирования генома человека стремительно сокращается, данные о генетической последовательности миллиардов людей должны стать доступны гораздо раньше, чем предсказывалось 10 лет назад. Это станет основой персонализированной медицины. Тем не менее, по-прежнему принципиально не ясно, могут ли эти данные в сочетании с экспрессией генов в различных клетках и тканях, имеющих отношение к различным заболеваниям, быть эффективно использованы в клинической медицине и здравоохранении или в предсказании реакции на различное лечение [2]. Сочетание этих трех пунктов – фармакогеномика, биотехнологии и решение нормативных вопросов – следует рассматривать как триаду необходимых компонентов для достижения успеха в персонализированной медицине [104].

Одним из основных понятий современной персонализированной медицины является салютогенез – учение о достижении состояния физического, психического и социального здоровья, а также его сохранении. Проводимые исследования, главным образом, стараются ответить на вопрос – каковы причины сохранения здоровья и ненаступления болезни в каждом конкретном случае [78]. Выбор медицинского вмешательства необходимо учитывать технологические достижения биомедицины, но приводить их в соответствие физические, психологические и духовные потребности пациента в контексте их биографии. Соответствующие параметры оценки эффективности должны быть разработаны и внедрены для того, чтобы оценить успешность вмешательств в личностно-ориентированной, салютогенетической системе.

Основные направления персонализированной медицины. Все большее число заболеваний, диагностируемых молекулярно-биологическими методами, требует персонализированного и предиктивного подхода. В частности, аутоиммунные, системные заболевания соединительной ткани являются одними из наиболее подходящих для применения персонализированной медицины вследствие высокой степени неоднородности проявлений, часто затрудняющих клиническую диагностику. Такая неоднородность также отражена в большом количестве точек приложения лечения. Все большее число биопрепаратов, а также малые молекулы уже используются, и есть перспективы в развитии новых препаратов. Для того, чтобы наилучшим образом выбирать варианты лечения, должны быть определены и утверждены целевые и не значимые биомаркеры. С этой целью, новые правила необходимы для взаимодействия между научными учреждениями и промышленностью под регулирующим контролем [104]. Создание систем многоцентровых коллекций биопроб с четким определением доступа, а также с определением четкого маршрута для проверки, аттестации и регистрации биомаркеров заболеваний и комбинаций лекарственных препаратов являются одними из наиболее важных областей, где требуется эффективное сотрудничество фармацевтической промышленности и научных кругов [142].

Предмет области фармакогенетики, также известный как фармакогеномика, имеет длинную историю. Исследования в этой области привели к фундаментальным открытиям, которые способствовали пониманию причин, почему у разных людей отличается метаболизм, как они переносят лекарственные препараты и, в конечном счете, как они реагируют на препараты с точки зрения их эффективности или токсичности. Тем не менее, небольшая часть этих знаний была представлена в клинической практике большинством лекарственно-ассоциированных генов, исследования полиморфизмов которых имеют признаки клинической эффективности, однако не внедрены в широкую практику [40, 160]. Достижения в области фармакогеномики, начиная с 2000 года, в том числе наличие данных о полиморфных вариантах генома человека, предоставили беспрецедентные возможности для понимания различий в реакциях на прием лекарственных препаратов, а также возможность включить эти сведения в программы диагностики и лечения пациентов. Это только вероятный систематический подход, который оценивает и преодолевает различные поступательные пробелы в интерпретации биомаркеров от научных открытий к клинической практике [151]. Сегодня широко используются персонализированные подходы к подбору лекарственной терапии – при назначении варфарина, клопидогреля и многих других. Фармакогенетическое тестирование при назначении пациенту варфарина позволяет выделить «медленных» и «быстрых» метаболизеров, у которых скорость биотрансформации антикоагулянта в печени может различаться во много раз. Эти диагностические сведения чрезвычайно ценны, поскольку позволяют более корректно назначать дозировку препарата уже на старте терапии, и значительно сократить количество осложнений, процент которых остается высоким [31, 69]. Антиагрегант клопидогрель, при высокой эффективности и относительной безопасности, в ряде случаев провоцирует парадоксальную реакцию на терапию с развитием обратного эффекта. Выявление молекулярно-генетических маркеров предрасположенности к парадоксальной реакции может способствовать сокращению случаев неудачного лечения [28].

Кроме генетических исследований различных заболеваний, предиктивная медицина шагнула в сторону преморбидных состояний, в частности, проблемы избыточной массы тела. Менее чем за четыре года, 52 генетических локуса были определены как однозначно связанные с развитием ожирения. Этот огромный успех породил надежды и ожидания, что результаты генетических тестирований скоро станут неотъемлемой частью персонализированной медицины. Однако полиморфные варианты этих локусов имеют только незначительное воздействие на возникновение ожирения и объясняют лишь часть от общего числа случаев. Таким образом, их точность в предсказании ожирения является невысокой и не может конкурировать с прогнозированием традиционных факторов риска. Самая большая научная ценность идентифицированных локусов заключается в их вкладе в выявление новых путей, которые лежат в основе патофизиологии возникновения ожирения [131].

Изучение этих механизмов ложится в основу составления индивидуализированных программ питания с учетом особенностей метаболизма конкретного пациента [157]. Разработка генетической панели для тестирования предрасположенности к ожирению является перспективной с точки зрения бизнес-модели. Некоторые из локусов уже используются в коммерчески доступных тестах генома для оценки риска ожирения в течение жизни. Сторонники таких тестов считают, что результаты полногеномного исследования может оказывать благотворное влияние на пищевое поведение и изменение образа жизни, однако предварительные отчеты не подтверждают эту гипотезу [131].

Еще одним перспективным направлением персонализированной медицины являются исследования, посвященные стволовым клеткам. Углубление понимания биологии стволовых клеток, возможность перепрограммирования дифференцированных клеток в состояние плюрипотентных и доказанная мультипотентность в определенных соматических клетках сделали возможными захватывающие терапевтические достижения. Преимущества методик заключаются в возможности моделирования многих заболеваний и разработке индивидуальной терапии, а также в их использовании в трансплантации и

биоинженерии [154]. Использование аутологичных стволовых клеток наиболее желательно, так как это позволяет избежать проблемы отторжения тканей, а также нивелирует этические и нормативные вопросы. Определение наиболее подходящих источников клеток для различных применений, разработка соответствующих методик клинического класса будет иметь важное значение для оценки безопасности и значения клеточной терапии, которая дает большие надежды, но в общем и целом еще далека от внедрения в клиническую практику. Стволовые клетки сейчас – ведущее звено в контексте восстановления тканей и регенеративной медицины, в том числе, с акцентом на индивидуальные клинические подходы для каждого случая [152].

Спазм сосудов головного мозга является основной причиной заболеваемости и смертности при аневризматическом субарахноидальном кровоизлиянии. Считается, что воспалительный каскад инициирован компонентами излившейся крови, нарушая функцию сосудистых гладких мышечных клеток магистральных артерий головного мозга, что приводит к сужению сосудов. Понимание генетической основы сосудистых заболеваний головного мозга, в частности, ОНМК и вазоспазма, перспективно для выявления, лечения и реабилитации пациентов после этих фатальных катастроф [97, 125]. Итоги новейших исследований позволили сделать ключевые выводы о стратегии персонализированной медицины в отношении сосудистых катастроф. Важнейшими являются: прогнозирование генетически обусловленного риска на основе результатов секвенирования генома, исследования биомаркеров и полиморфных вариантов, выявление ключевых сигнальных путей воспалительного каскада с целью обеспечить терапевтический эффект, а также генная терапия и доставка генных конструкций с использованием вирусных векторов. Успехов в области генетических технологий может добавить проведение генетического скрининга и генная доставка в ходе лечения и реабилитации больных ОНМК. Все дальнейшие исследования в области генетики открывают большие перспективы для коррекции спазма сосудов головного мозга, геморрагических и ишемических инсультов [123].

Таргетная терапия онкологических заболеваний. Значительные изменения в лечении онкологических заболеваний имеют место в последние годы, но достичь внедрения профилактических мероприятий, основанных на принципах персонализированной медицины, пока не удается. Отсутствие таких программ лечения для пациентов, очевидно, имеет не только существенные клинические и социальные последствия для отдельных лиц, но и сильно влияет на здоровье экономики. Требуется смена парадигмы, в которой клиницисты будут отдавать предпочтение процедурам, основанным на молекулярных, а не анатомических или гистопатологических критериях. Уже сегодня знание молекулярных путей межклеточного взаимодействия и малигнизации привело к разработке терапевтических препаратов, которые уже привели к значительному улучшению клинических исходов для пациентов. Глубокое понимание молекулярных взаимоотношений, гетерогенности опухолей является ключом к дальнейшим успехам в лечении рака почки, колоректального рака, и многих других [99, 117].

Современным методом диагностики, определившим развитие персонализированных подходов в онкологии, является иммуногистохимия. Этот метод отвечает на главные вопросы индивидуализации в онкологии – генетической и морфологической гетерогенности опухолей, а также их взаимодействии с лекарственными препаратами [138]. Наряду с генотипированием по локусам, ассоциированным с повышенным риском возникновения рака, широкое использование иммуногистохимического исследования позволит наиболее полно оценивать характеристики опухолей и подбирать таргетную индивидуальную терапию каждому больному.

Развитие персонализированной медицины неотделимо от интеграции разработок самых различных научно-технических областей, в том числе, инженерных решений [74]. В последние десятилетия исследования в области технологий носимых датчиков проводились с акцентом на их применение для мониторинга здоровья и динамического наблюдения пациентов с хроническими заболеваниями. Все чаще встроенные в одежду датчики состояния физиологических функций организма («умная одежда») используются в системах

дистанционного мониторинга в контексте клинического применения, с акцентом на реабилитационные мероприятия. Таким образом, проводится большая работа по внедрению носимых технологий и соответствующих коммуникаций, а также анализ данных технологий с позиций достижения удаленного мониторинга пациентов в доме и по месту жительства. Возможности реабилитации также существенно возросли. Имеет место растущий интерес к необходимости создания трансляционной медицинской системы в домашних условиях для реализации клинических вмешательств, терапевтических процедур. Проводятся исследования для достижения удаленного мониторинга пожилых людей и пациентов, страдающих хроническими заболеваниями. Клинические вмешательства скоро столкнутся с необходимостью создания бизнес-моделей для покрытия расходов и определения механизмов обслуживания технологий и управления ими. Важно будет обеспечить решение проблемы возмещения затрат и технических сложностей, чтобы носимые датчики и системы мониторинга оправдали свои цели улучшения качества помощи, оказываемой пожилым людям и лицам, страдающим хроническими заболеваниями, путем удаленного мониторинга основных физиологических параметров организма в рамках профилактики и контроля за течением заболевания [150].

Персонализированные подходы к диагностике и лечению имеют место не только в наукоемких высокотехнологичных областях биомедицинской науки. Использование таких подходов в клинической, индивидуально ориентированной работе психолога или психиатра получает все большее распространение. Составление индивидуальных схем лечения и программ реабилитации позволяет снизить количество рецидивов, а профилактическая работа в этом направлении значительно уменьшает заболеваемость большим числом психиатрических расстройств [147].

Персонализированная медицина основана на личностном контакте врача с каждым пациентом, и немыслима без должного уровня комплаентности. Накопленный опыт позволяет провести анализ основных аспектов взаимоотношений врач-пациент, а также связанных с ними сложностей. Как

известно, действия врача должны быть сообщены и согласованы с пациентом. Проведено несколько исследований, посвященных таким взаимоотношениям. Врачи имеют расхождения во мнениях относительно роли пациента в принятии решений в ходе лечения. Для некоторых, выбор терапии должен осуществлять только лечащий врач, и убедить пациента принимать лечение, основываясь на авторитете врача, будет наиболее подходящим. По мнению других, участие пациентов является важным компонентом принятия решений о лечении. Этот выбор стратегии по-прежнему является серьезной проблемой для многих врачей, поскольку у пациентов и врачей приоритеты могут очень сильно различаться. Этот патернализм против выбора пациента остается дискуссионным и широко обсуждается в литературе. В настоящий документ, диссонанс между риторикой индивидуализации и врачей клинического поведения появились, связаны с этим вопросом, с данными, выявление напряженности в отношениях между врачами желание лечить социальные потребности пациентов, с одновременной обработкой их медицинские потребности. [89].

Этические аспекты персонализированной медицины. Концепции и перспективы персонализированной медицины встречают большой энтузиазм, и в обозримом будущем, действительно, могут привести к изменению парадигмы в здравоохранении. Однако повышение предсказательной силы медицины и индивидуализированные терапевтические вмешательства не только обещают более эффективное лечение пациентов, улучшение качества жизни большего числа людей и эффективное использование ограниченных ресурсов здравоохранения [90]. Эти парадигматические изменения также требуют по-новому взглянуть на этические и социальные последствия новой эры персонализированной медицины. Одним из центральных этических вопросов, возникающих в этой связи, является возрастающая роль личной ответственности за здоровье. Это явление – понятное следствие перехода от ориентированной на обращения при болезни медицины к активной профилактике заболеваний, с акцентом на личную ответственность за здоровье. На данный момент системы здравоохранения многих стран делают только первые шаги к сбалансированию

солидарности традиционной медицины с новым характером ответственности пациента за свое здоровье. Тем не менее, следует избегать опускаться до сценария «жертвы и обвинения», где уязвимые люди лишены лечения из-за утверждения, что они несут ответственность за свое слабое здоровье, в то время как факторы, которые способствовали его ухудшению, находятся вне их контроля.

Акцент на прогнозирование и предупреждение также может влиять на отдельные взаимоотношения врача и пациента. Роль практикующего здравоохранения в качестве нейтрального модератора сводится к предоставлению консультаций по вопросам персонализированной медицины, в которых подчеркиваются меры профилактики и обеспечивается высокая достоверность прогнозирования, что также может быть поставлено под сомнение. Кажется, что можно наблюдать искушение к использованию более директивного подхода в отношении некомплаентных пациентов. Однако такой подход не должен ущемлять права пациентов, которые, среди прочего, включают в себя право на частную жизнь и самоопределение. Взаимоотношения врача и пациента также могут быть затронуты в связи с растущей дифференциацией пациентов на различные группы в зависимости от степени резистентности или эффективности лечебных мероприятий [132]. Для врача будет не легко сообщить пациенту, что конкретное лечение не применимо в связи с тем, что его эффективность не достигает определенного порога.

Наконец, развивающиеся персонализированные методы диагностики в условиях свободного рынка в современном обществе могут поднять некоторые другие проблемы. Мы уже столкнулись с быстрым внедрением прямого, без назначения врача, генетического тестирования на рынок. С одной стороны, это перекладывает ответственность за некоторые важные решения о выборе способов сохранения здоровья на пациентов и увеличивает степень их информированности и самоопределения. С другой стороны, этот процесс имеет потенциал вредных последствий, таких, как риск психологического ущерба вследствие неправильной непрофессиональной интерпретации теста. Трудно бывает убедиться, что

проведенное пациенту прогностическое генетическое тестирование будет сопровождаться индивидуальным медицинским наблюдением и генетическим консультированием [103].

1.5. Оценка факторов риска, выявленных молекулярно-генетическими исследованиями, в России и за рубежом

Последнее десятилетие ознаменовалось трансформацией традиционных подходов в медицине в индивидуальные программы лечения и реабилитации для каждого пациента в отдельности. Благодаря широкому внедрению принципов персонализированной и предиктивной медицины удалось достигнуть успехов в ранней диагностике. Очевидно, что реализация всех этих принципов возможна только при оценке комплекса факторов риска, характерных для конкретного больного, - как модифицируемых, так и конституциональных. Среди конституциональных факторов особое место занимает генетический статус пациента, его наследственная предрасположенность к возникновению того или иного состояния. В связи с этим, особое внимание исследователей привлечено к поиску и оценке потенциальных генетических факторов риска, особенно для таких многообразных и полиэтиологических заболеваний, как сердечно-сосудистые. Современные молекулярно-генетические методы исследований открывают новые перспективы для диагностики, лечения и прогнозирования исхода острых нарушений мозгового кровообращения, в том числе, ишемического характера.

Необходимо отметить, что чаще всего непосредственным предметом поиска при выявлении ассоциативных связей являются однонуклеотидные, или точечные, замены оснований в генах (SNP), детерминирующих компоненты той или иной молекулярно-биологической системы. Замещение одного нуклеотида в одном или обоих аллелях гена обуславливает эффект мутации – снижение функциональной активности кодируемой молекулы, значительно реже возможны варианты усиления функции или же ее полного исчезновения. В иных случаях, эффект

генетической предрасположенности обусловлен такими изменениями генотипа, как делеции, инсерции, дупликации, и некоторые другие.

Исходя из известных патогенетических механизмов развития ишемического инсульта, исследовательский поиск направлен по основным ферментно-метаболическим системам: оксидативный стресс, гемореологические реакции, молекулярные механизмы сигнальных взаимодействий, воспалительный каскад. Проведен ряд исследований для поиска новых кандидатных полиморфных вариантов, влияющих на риск развития ОНМК, а также полногеномных, включающих сотни и тысячи пациентов, для выявления ассоциации уже известных генетических маркеров сердечно-сосудистых заболеваний с возникновением инсульта. Подобный подход позволяет не только установить максимальное количество ассоциированных с инсультом мутаций, но и проследить связь ОНМК с другой соматической патологией. Также, в практике имеет место генотипирование по определенным аллельным вариантам.

В мире накоплено немало сведений, позволяющих судить о возможной генетической предрасположенности пациента к возникновению и/или более тяжелому течению ишемического инсульта. Результаты наиболее ранних исследований свидетельствуют о значительном риске инсульта при его наличии у ближайших родственников, большое внимание уделялось таким наследственным состояниям, как гипергомоцистеинемия, метаболический синдром, гипертоническая болезнь [115]. Впоследствии, с появлением и широким внедрением молекулярно-генетических методов исследования, началась расстановка акцентов на конкретных полиморфных аллелях. Так, еще 10 и более лет назад изучены ассоциации риска ишемического инсульта с гипергомоцистеинемией и носительством полиморфных вариантов генов метилентетрагидрофолатредуктазы, факторов свертывания крови, в частности, FV Лейден [115], регуляции воспалительных механизмов [91], систем сигнальной рецепции клеток – NOTCH3, PDE4D [91]. Однако, исследования были весьма разрозненны по всему миру. Проведение в последние годы крупных мета-

анализов, включающих десятки исследовательских работ, позволяет более достоверно составить представление о генетических факторах риска инсульта.

Исследователи единогласны в мнении о том, что изучение генетической предрасположенности возможно только с учетом клинического подтипа ишемического инсульта в связи со значительными различиями в патофизиологических процессах. Таким образом, представлено распределение в зависимости от клинического подтипа.

Атеротромботический инсульт. Крупнейшее европейское мета-аналитическое исследование последних лет – METASTROKE (2012) [175] – продемонстрировало наиболее сильные ассоциации с развитием атеротромботического инсульта полиморфных аллелей гена HDAC9 – гистоновой деацетилазы, фермента, ответственного за изменение организации хроматина и транскрипцию генов. Также показана взаимосвязь аллельных вариантов в структуре хромосомы 9p21 с риском атеротромботического инсульта; отношение шансов 1,39 и 1,15, соответственно. Необходимо отметить, что для обоих локусов уже доказана связь с повышенным риском развития ишемической болезни сердца [116, 136]. При этом, до конца не выяснено, какие гены затрагивает изменение структуры 9p21, что ставит новые задачи для патофизиологического поиска. Описан целый ряд менее распространенных, но достоверно повышающих риск атеротромботического инсульта полиморфных вариантов. К ним относятся: тромбофилические факторы риска – тромбоцитарный гликопротеин GpIIIa, фактор свертывания крови FXIII, метилентетрагидрофолатредуктаза MTHFR (C677T); мутации, затрагивающие гены сигнальной системы клеток – PDE4D и PON, фосфодиэстеразный механизм [87]; изменения структуры гена аполипопротеина E APOE, ответственного за утилизацию холестерина из системного кровотока [87, 119]. Также, для европеоидной популяции выявлены ассоциации наличия SNP rs505922 в гене ABO, детерминирующем группу крови, с атеротромботическим инсультом [182]. В ходе оценки кандидатных полиморфных вариантов по результатам полногеномных исследований, выявлен

повышенный риск атеротромботического инсульта у носителей аллельного варианта гена регулятора 1 фосфатазы и актина PNACTR1 [81].

Кардиоэмболический инсульт. Уже упомянутое исследование METASTROKE (2012) [175] демонстрирует значительный риск развития кардиоэмболического инсульта для носителей мутации в генах транскрипционных факторов PITX2 и ZFNХ3, отношение шансов составило 1,36 и 1,25, соответственно. Аналогичные результаты получены в независимом исследовании в Великобритании [81]. Оба локуса имеют ассоциации с риском развития фибрилляции предсердий [107, 110], наличие которой является ведущим фактором риска кардиоэмболического инсульта. SNP rs505922 в гене ABO, детерминирующем группу крови, также повышает риск возникновения кардиоэмболического инсульта [182]. В исследовании, проведенном в США, показан высокий риск развития кардиоэмболического инсульта при носительстве варианта 9p21 rs1333040 в европеоидной популяции с отношением шансов 1,55 [116]. В России при изучении славянской популяции выявлен повышенный риск развития кардиоэмболического инсульта у носителей варианта SNP rs1842993 на 7 хромосоме [164].

Лакунарный инсульт. Согласно данным европейских исследователей, лакунарный инсульт имеет наименьшие ассоциации с маркерами генетической предрасположенности – всего 16% случаев обусловлены наследственными причинами, тогда как для остальных подтипов ишемических инсультов эти показатели разнятся от 37,9% до 32,6% [81]. Исследования, проведенные в европейских популяциях, указывают на весьма ограниченный список маркеров лакунарного инсульта. К ним относятся полиморфизм гена ангиотензинпревращающего фермента ACE I/D и провоспалительного цитокина – интерлейкина IL6 [87].

Общие факторы риска. Несмотря на значительные патофизиологические отличия, удастся выявить маркеры генетической предрасположенности в равной степени ко всем подтипам ишемических инсультов. В исследовании METASTROKE (2012) таким маркером оказалась мутация в гене NINJ2 – белка,

адгезируемого шванновскими клетками для восстановления нервных окончаний после повреждения. Результаты исследователей из США демонстрируют ассоциации аллельного варианта PSMA6 rs1048990 с развитием всех подтипов ишемического инсульта, отношение шансов 0,80 [116].

Сведения о генетических факторах риска для представителей африканского этноса немногочисленны. По результатам исследований афро-американской популяции, вариант 9p21 rs1333040 и PSMA6 вариант rs1048990 достоверно повышают риск возникновения ишемического инсульта вне зависимости от клинического подтипа, отношение шансов 0,65 и 0,31, соответственно [116]. Прочие исследования не содержат прямых указаний на принадлежность пациентов к африканской расе.

Исследования, проведенные в регионах Восточной и Южной Азии, отличаются меньшим масштабом и, в большинстве случаев, не подразделяют выборки пациентов по клиническим подтипам инсульта. Тем не менее, получены достоверные данные для объединенных групп. В популяции Китая выявлена генетическая предрасположенность к возникновению ишемического инсульта у носителей полиморфных вариантов генов системы биосинтеза лейкотриенов ALOX5AP rs4073259 [189], эндотелиальной NO-синтазы 4b/a, T-786C и G894T [180], ангиотензинпревращающего фермента ACE I/D [190], причем для последнего имеется указание на больший риск в случае лакунарного инсульта. При изменении структуры гена параоксоназы PON – компонента фосфодиэстеразы и фермента перекисного окисления – обнаружен протективный эффект мутантного аллеля в отношении развития ишемического инсульта и атеросклеротического поражения сосудов [130]. В исследованиях, проведенных в Китае и Японии, обнаружен повышенный риск развития инсульта для аллельных вариантов гена протеинкиназы C PRKCH [121]. Подробный анализ генетических факторов риска в Южной Азии (Индия, Пакистан, Малайзия) выявил повышенную вероятность возникновения ишемического инсульта при носительстве аллельных вариантов генов MTHFR C677T, фактора свертывания FV Лейден, фосфодиэстеразы PDE4D SNP 83, ангиотензинпревращающего

фермента ACE I/D, интерлейкина IL10 G1082A, однако, связи с клиническим подтипом инсульта также не были выяснены [184].

Попытки изучения генетической предрасположенности к ишемическому инсульту в славянской популяции в России единичны. Кроме уже упомянутого [164], проведено исследование ассоциации полиморфизмов FXII, параоксоназы PON, гипоксия-индуцирующего фактора HIF1 α , Gp1ba, цитохрома P450 с возникновением ишемического инсульта. Показано, что носительство вариантов PON1A/-x и PON2 GG повышает риск инсульта с отношением шансов 3,5 [79].

Несмотря на большое количество накопленной информации о факторах генетической предрасположенности к развитию того или иного подтипа ишемического инсульта, остается не до конца ясной роль подобных генетических исследований в современной персонализированной медицине. С одной стороны, в практике имеют место хорошо зарекомендовавшие себя генетические тесты для определения риска сердечно-сосудистых заболеваний (инфаркт миокарда, фибрилляция предсердий, атеросклеротическое поражение сосудов, тромбофилии и многие другие), но, с другой стороны, эти тесты мало применимы для оценки риска развития инсульта [135]. В общем случае, неудачи их использования обусловлены многообразием и разнонаправленностью патофизиологических процессов, приводящих к ишемии головного мозга. Именно поэтому так целесообразно проведение молекулярно-генетических исследований с опорой на клинические критерии. И несмотря на то, что для каждого подтипа ишемического инсульта уже получены сведения о факторах риска, остаются надежды обнаружить общие, фундаментальные генетические маркеры, позволяющие диагностировать и прогнозировать течение инсульта с разными клиническими проявлениями.

1.6. Основные методы реабилитации после ОНМК

Содействие в преодолении последствий инсульта является одной из главных задач медицинской реабилитации. Всемирная организация

здравоохранения (ВОЗ) определяет реабилитацию как «комбинированное применение медицинских, психологических, социальных, педагогических и профессиональных мероприятий с целью подготовки и переподготовки (переквалификации) индивидуума на оптимум его трудоспособности» [34, 61].

Отечественные и зарубежные авторы уделяют большое внимание реабилитации постинсультных больных. Следует отметить, что при традиционном лечении, ориентированном на коррекцию неврологического дефицита, к труду возвращается 20% больных [4]. К сожалению, в России медицинская реабилитология чаще всего ограничивается на фоне медикаментозного лечения лечебной физкультурой, массажем, физиотерапией, мануальной терапией, направлением на санаторно-курортное лечение; эти методы применяются, как правило, разрозненно, бессистемно [24]. В то же время, в нашей стране и рубежом наряду с перечисленными методами активно разрабатывается и внедряется в практику множество инновационных методов. Реабилитация больных инсультом связана с большими трудностями и не всегда достаточно эффективна [35]. Для достижения максимального эффекта, перспективно создание специализированных центров, клиник, отделений, где помощь больным в восстановительном периоде может быть оказана на наиболее высоком уровне и с наименьшими экономическими потерями [176]. Следует отметить, что служба реабилитации обладает значительным потенциалом в решении не только медицинских, но и социальных проблем современного общества [7, 50].

На сегодняшний день разработано огромное количество методик для реабилитации больных, перенесших ОНМК, сочетающих классические и инновационные способы восстановления утраченных функций. При этом внимание исследователей уделяется всем возможным аспектам воздействия на нервно-психическое состояние больного. Современный этап развития медицинской реабилитации постинсультных больных характеризуется внедрением в клиническую практику мультидисциплинарного подхода. В состав мультидисциплинарной бригады необходимо вводить следующих специалистов: невролог, врач и методист ЛФК, врач и медицинская сестра физиотерапии,

логопед, клинический психолог, массажист, рефлексотерапевт, врач-эрготерапевт, кинезотерапевт, психиатр – по необходимости, медицинские сестры, обученные методам медицинской реабилитации. Обязательным при проведении ранней медицинской реабилитации пациентов, перенесших церебральный инсульт, являются адекватная терапия возникающих у пациентов психопатологических нарушений и направленная психотерапевтическая работа [34].

Физиотерапевтические методы лечения назначают через 2–3 нед. после перенесенного инсульта. При этом рекомендовано применение лазеро-, магнитотерапии, электростимуляции паретичных мышц с помощью импульсных токов. Интенсивность лечения определяется выраженностью нарушений и вариантами сочетания с другими методами реабилитации.

Комплекс лечебной гимнастики, по мнению исследователей, должен включать мероприятия по восстановлению, в первую очередь, статического стереотипа, а затем динамического, на базе использования простых рефлексорных реакций и автоматизмов. Последовательность использования упражнений для мышц конечностей и туловища должна соответствовать принципам: от крупных групп мышц к мелким, от крупных суставов к мелким, от изометрической нагрузки к динамической (изотонической). В целях коррекции динамического стереотипа используются приемы растяжения, аппроксимации, сопротивления движению (в пассивной, пассивно-активной и активной формах) при выполнении диагональных, спиральных моделей движения во всех суставах верхних и нижних конечностей симметрично как пораженной стороны, так и интактной стороны, в каждом исходном положении. Стоит отметить, что начинать проведение комплекса упражнений необходимо в максимально ранние сроки, сразу после стабилизации состояния пациента [64].

В последние годы набирает популярность альтернатива традиционным лечебным физическим упражнениям – йога. Занятия этой модной разновидностью фитнеса все чаще рекомендуют в восстановительном периоде многих неврологических заболеваний [143]. Несмотря на большое количество направлений, в исследованиях показана достоверная эффективность занятий

йогой в постинсультном периоде по сравнению с классическими методиками ЛФК [124].

В раннем восстановительном периоде применяется кинезотерапия (индивидуальные занятия или занятия малогрупповым методом) в соответствии с поставленными задачами. Кинезотерапия должна сочетаться с повторными курсами массажа и физиотерапевтических процедур. В последнее время с целью повышения пластичности мозга используется метод мезодиэнцефальной модуляции, а также стимуляция нейронов коры головного мозга посредством магнитных токов. Данный метод реабилитации имеет множество разновидностей – от традиционного обучения двигательным навыкам до экспериментальных способов с применением новейших медицинских технологий [84].

В настоящее время проводятся многочисленные исследования возможностей применения у больных, перенесших инсульт, так называемой форсированной тренировки паретичных конечностей (прежде всего руки). Сущность предложенного метода заключается в том, что здоровая рука фиксируется так, что больной не может ее использовать (в течение 5 ч в день). Тем самым создаются условия, при которых все внимание пациента направлено на использование паретичной руки. Одновременно рекомендовано проводить эрготерапию в специально оборудованных комнатах [34].

Для восстановления утраченных после ОНМК функций поддержания вертикального положения тела и ходьбы широко применяются специальные приспособления, позволяющие разгрузить пораженную часть тела на начальных этапах и за счет этого постепенно возвращать паретичную конечность в процесс ходьбы. Наиболее удобно проводить подобные упражнения на тредмиле, где четко определяется этапность и постепенное увеличение темпа тренировок. Стоит отметить, что по данным исследований, все методы имеют достоверную эффективность и преимущества по сравнению с традиционными методами восстановления [186].

Новейшим словом в технике постинсультной реабилитации являются роботизированные тренировочные комплексы. Они представляют собой

электромеханические экзоскелеты-ортезы, которые могут симулировать фазы ходьбы или иных стереотипных действий у надевшего их пациента. Подобные роботы существуют для тренировки верхней и нижней конечности. Согласно данным исследований, робот-ассистирующие методики ничем не уступают традиционным, и имеют значительные перспективы развития, особенно в случаях запущенного или некорректного ведения восстановительного периода [162].

С целью восстановления бытовых навыков широко используется эрготерапия (обучение больных одеванию, приему пищи, пользованию туалетом, телефоном, ручкой или карандашом для письменного вербального общения при выраженных нарушениях устной речи и т.п.). На поздних восстановительных этапах целью эрготерапии является повышение самостоятельности пациента и возвращение его в семью, на работу, в привычное окружение. Эрготерапия осуществляется посредством художественного творчества, работы в специальных кабинетах (мастерских) трудотерапии (работа с глиной, деревом, макраме, вязание, работа на ручных ткацких мини-станках) [102].

Иглорефлексотерапия, как классический метод, достоверно повышает степень восстановления двигательных и чувствительных функций пациентов, перенесших инсульт, и имеет место в реабилитационных программах в подавляющем большинстве случаев.

Существуют специализированные методики для восстановления утраченных после ОНМК функций органов чувств. В случае поражения зрительных путей (например, гемианопсия), применяются тренажеры, позволяющие расширять поля зрения со здоровой стороны и стимулировать пострадавшие участки. Аналогичные приборы создаются для слуховых расстройств [108].

В последнее время большое внимание уделяется когнитивной реабилитации, которая осуществляется посредством сочетания физических упражнений с психологическими подходами - когнитивной гимнастике [161].

Перспективными методами восстановления церебральных функций являются реабилитационные технологии, основанные на биологической обратной

связи. Метод внешней ритмической стимуляции является эволюционным этапом в развитии учения о функциональном биоуправлении. Сначала производится количественный контроль функциональных резервов мозга, выделяется ведущий сохранившийся частотный или модальностный режим, который затем предъявляется в качестве оптимального внешнего свето-звукового стимула. Например, это может быть изображение бутона цветка. Преимуществом данной методики является выделение исходных сенсомоторных резервов нервной системы перед реабилитацией. Так, пациенту, наблюдающему за бутоном на экране монитора, предлагается совершить движение паретичной конечностью, которое контролируется электромиографией. Если ему это удастся, бутон на экране распускается, и пациент косвенно получает информацию о результате воздействия даже при отсутствии чувствительности. Таким образом, последующее управление процессом восстановления функций осуществляется на основе обратной связи достигнутых результатов с программой выбора внешних референтов [162]. Это позволяет контролировать и вовремя корректировать реабилитационные механизмы при поражении нервной системы после инсульта и многих других заболеваний.

Несмотря на значительное количество методов, применяемых в реабилитации постинсультных больных, появление новых технологий, процент инвалидизации продолжает оставаться высоким. Для достижения успеха в лечении и восстановлении неврологических нарушений необходимо вырабатывать индивидуальные подходы и схемы при лечении каждого пациента, с акцентом на современные молекулярно-биологические технологии. Это представляется перспективным для улучшения результатов борьбы с глобальной проблемой здравоохранения – инсультом.

Глава 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Дизайн исследования

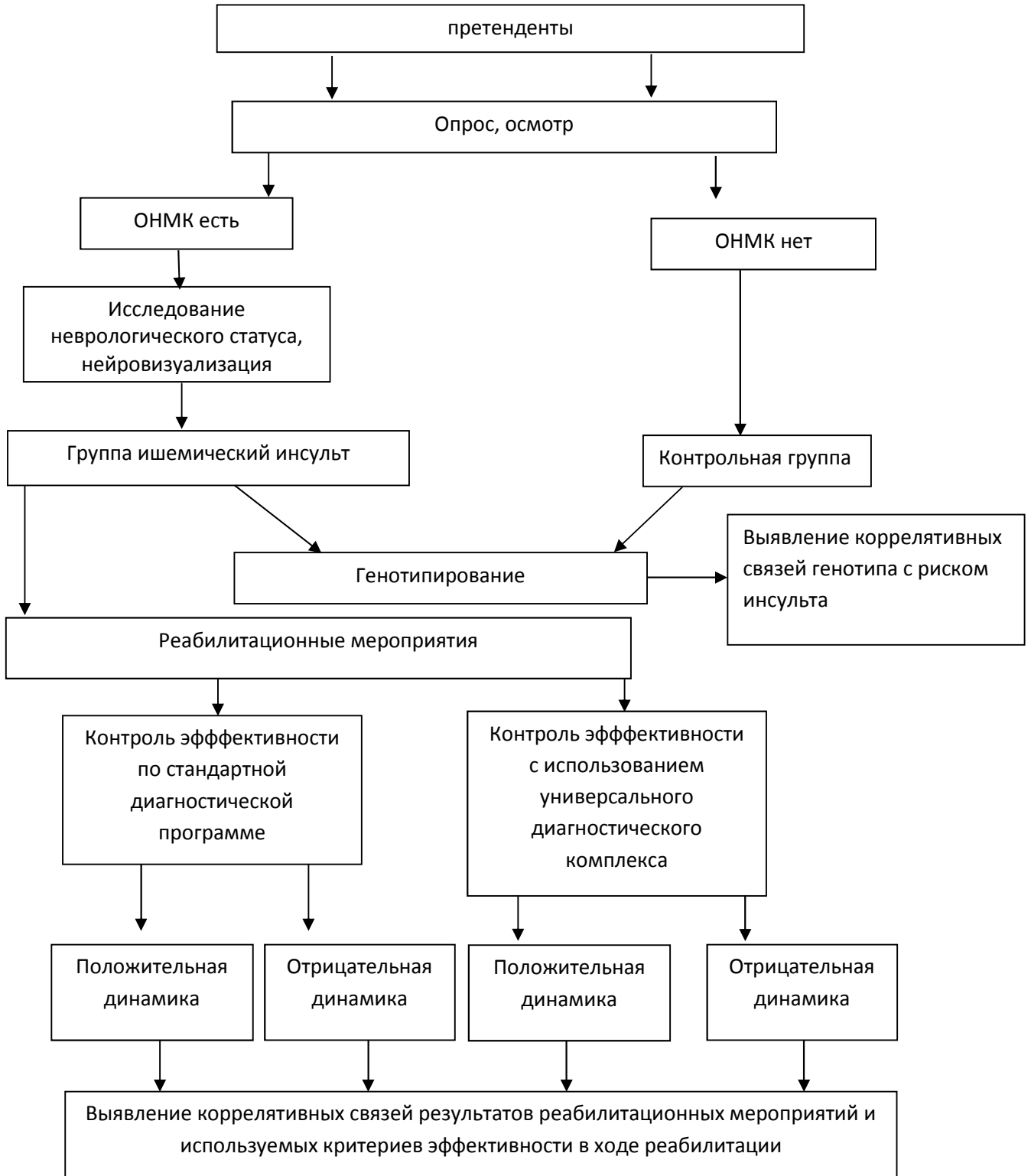


Рисунок 1 – Схема дизайна исследования

При разработке дизайна исследование было определено как ретроспективное открытое одноцентровое типа случай-контроль.

Длительность участия пациентов в исследовании составляет 6 месяцев с момента установки диагноза ишемического инсульта, для контрольной группы – однократный опрос, осмотр и забор биологического материала. Общее количество пациентов должно составить не менее 1700 человек, из них 500 – лица, не имеющие в анамнезе и на момент включения в исследование нарушений мозгового кровообращения, 1200 – пациенты с ишемическим инсультом, диагностированным на основании изучения неврологического статуса и по результатам МРТ и/или МСКТ. Участникам исследования (не менее 500) будет проведено молекулярно-генетическое исследование носительства полиморфных вариантов генов ферментов перекисного окисления липидов. Через 6 месяцев после входного осмотра каждый участник с диагностированным ишемическим инсультом будет осмотрен повторно с целью выяснения характера динамики неврологического статуса. В зависимости от результата осмотра, пациенты будут распределены в подгруппы по критерию исхода заболевания: с положительной динамикой (улучшение), с отрицательной динамикой (отсутствие изменений или ухудшение).

Исследование коррелятивных связей носительства полиморфных вариантов генов перекисного окисления липидов с риском возникновения ишемического инсульта будет проведено путем сравнения частот встречаемости аллельных вариантов в группах исследования с вычислением отношения шансов для каждого полиморфизма. Изучение влияния носительства редких аллелей на прогноз ишемического инсульта будет выполнено при сравнении частот встречаемости аллельных вариантов генов между подгруппами пациентов, сформированными после повторного осмотра.

Объективизация оценки неврологического статуса пациентов будет осуществлена посредством шкал Бартел, Ренкина, SS-QOL, индекса мобильности РИВЕРМИД.

Молекулярно-генетическое исследование будет включать полиморфные варианты генов: HIF1a, ApoE, MnSOD, GPX, BDNF, p22phox.

Пациент исключается из исследования в случае отказа от дальнейшего участия. Летальный исход в сроки до 6 месяцев трактуется как отрицательная динамика.

Протокол исследования разработан в соответствии со стандартами ГОСТ 52379-2005 «Надлежащая клиническая практика» и Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации, и одобрен этическим комитетом Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. Каждый пациент перед началом исследования подписал информированное добровольное согласие на участие в нем и на обработку персональных данных.

2.2. Характеристика клинического материала

Работа выполнена на базе Центра новых медицинских технологий Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Городской клинической больницы №1 г. Новосибирска, Центральной клинической больницы г. Бердска.

Сформированы 2 группы исследования: контрольную составили 500 пациентов без ОНМК и ТИА в анамнезе, без клинических факторов риска инсульта. Основную группу исследования составили 746 пациентов с ишемическим инсультом различной давности. Каждый участник был индивидуально опрошен и осмотрен исследователем с последующим заполнением соответствующей исследовательской анкеты, всем участникам с клиническими признаками ОНМК проведена магнитно-резонансная томография головы и шеи, являющаяся «золотым стандартом» диагностики ишемических инсультов. Неврологический статус в группе инсультов оценивался по шкалам Ренкина, Бартел, SS-QOL, РИВЕРМИД. На основании данных опроса, осмотра, результатов МРТ, а также предшествующей медицинской документации участника (при ее наличии) принималось решение о включении его в группу исследования.

Гендерно-возрастная характеристика групп исследования, критерии включения и исключения представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Гендерно-возрастная характеристика групп

Клинические группы	Гендерная характеристика	Средний возраст, лет	Критерии включения	Критерии исключения
Ишемические инсульты	342 женщины (45,8%) 404 мужчины (54,2%)	67,89±0,42	- возраст от 18 до 90 лет; - наличие ОНМК по ишемическому типу, подтвержденного клинически и по МРТ;	- беременность; - онкологические заболевания;
Группа контроля	340 женщин (68%) 160 мужчин (32%)	54,42±0,55	- возраст от 45 до 80 лет; - отсутствие венозных и артериальных тромбозов любой локализации в анамнезе и на момент исследования; - отсутствие тромбофилии; - отсутствие онкологических заболеваний	- беременность; - онкологические заболевания; - острый период соматических заболеваний; - заболевания сердечно-сосудистой системы

Группы исследования сопоставимы по гендерно-возрастным критериям, $p > 0,1$.

На каждого участника исследования заполнялась электронная тематическая карта, в которой фиксировались параметры: ФИО, возраст, пол, национальность; наличие генеалогических и клинических факторов риска (сопутствующая

патология, курение, прием алкоголя); перечень обследований, проведенных пациенту в связи с диагностикой ОНМК; консервативная терапия на момент включения в исследование; реабилитационные мероприятия (электростимуляция, физиотерапия, массаж, ЛФК, стабиллоплатформа). Также, оценивался неврологический статус по указанным шкалам в момент включения в исследование и через 6 месяцев для оценки динамики заболевания. Распределение пациентов в группах по клинико-эпидемиологическим критериям отражено в таблицах 2, 3, 4.

Таблица 2 - Этно-географическая характеристика групп исследования

Национальность	Основная группа, количество		Контрольная группа, количество	
	Абс. значение	%	Абс. значение	%
Русский	651	87,2	479	95,8
Украинец	51	6,8	3	0,6
Татарин	11	1,5	4	0,8
Армянин	4	0,5	2	0,4
Азербайджанец	4	0,5	1	0,2
Еврей	7	0,9	5	1,0
Грузин	1	0,1	0	0
Казах	5	0,7	1	0,2
Немец	9	1,2	2	0,4
Якут	3	0,4	0	0
Китаец	0	0	3	0,6

Таблица 3 - Клиническая характеристика пациентов контрольной группы

Диагноз	Количество	
	Абс.значение	%
Тромбоз глубоких вен нижних конечностей	113	22,6
Варикотромбофлебит	86	17,2
Посттромбофлебитическая болезнь	51	10,2
Грыжи передней брюшной стенки	22	4,4

ЖКБ. Хронический холецистит	22	4,4
Заболевания ЖКТ	17	3,4
Патология щитовидной железы	17	3,4
Сахарный диабет	2	0,4
Гинекологические заболевания	50	10,0
Эстетическая патология	33	6,6
Артериальная гипертензия	23	4,6
Урологические заболевания	5	0,1
Проктологические заболевания	6	1,2
Патология опорно-двигательного аппарата	5	1,0
Дерматомиозит	1	0,2
Миопия	1	0,2
Хронический тонзиллит	2	0,4
Практически здоровые лица	44	8,8

Таблица 4 - Распределение клинических факторов риска ишемического инсульта в основной группе

Фактор риска	Количество, абс. значения	Количество, %
Сахарный диабет	91	12,2
В том числе, 1 типа	89	17,8
В том числе, 2 типа	2	0,3
Ишемическая болезнь сердца	151	20,2
Артериальная гипертензия	252	33,8
Гиперхолестеринемия	200	26,8
Ожирение	111	14,9
Курение	112	15,0
Прием алкоголя	108	14,5
ОМНК в анамнезе	102	13,7
Отягощенная по ИИ наследственность	150	20,1

Всем пациентам с ишемическим инсультом проведена консервативная терапия согласно медико-экономическим стандартам (ацетилсалициловая кислота, клопидогрель, тиклопидин, варфарин, ботулинический токсин, флуоксетин, церебролизин) в условиях специализированного стационара, при необходимости – лечение сопутствующей патологии (инсулин, кордарон, леводопа, метформин, фраксипарин, клоназепам, сулодексид, амантадин, галантамин).

2.3. Методы проведения неинвазивной комплексной инструментальной диагностики и реабилитационных мероприятий

При лечении пациентов, перенесших инсульт, созданы реабилитационные программы, основополагающими принципами которых являются:

- комплексность,
- поэтапность,
- непрерывность,
- индивидуализация лечебных воздействий.

Проведение реабилитационных мероприятий динамично в своей структуре и часто зависит от целого ряда факторов:

- психологические особенности личности больного,
- этиология и характер заболевания,
- характер и тяжесть развившегося дефекта функции,
- социального положения больного и его профессии до болезни.

Для пациентов составлены индивидуальные программы реабилитации, зависящие от следующих факторов:

- давности инсульта,
- выраженности неврологического дефекта,
- наличия сопутствующей патологии,
- отсутствия противопоказаний для каждого метода лечения.

В комплекс реабилитационных мероприятий входили электростимуляция, физиотерапия, массаж, лечебная физкультура, занятия на стабиллоплатформе. Физиотерапия, электростимуляция, массаж и ЛФК проводились по стандартным методикам. Эффективность проводимых лечебных программ реабилитации контролировалась результатами инструментальных методов исследования нервной системы и микроциркуляторного русла.

Разработана и внедрена комплексная диагностическая программа, включающая в себя изучение состояния микроциркуляции в паретичных конечностях неврологических больных методами лазерной флоуметрии, инфракрасной плетизмографии, дистантной термографии. Электронеуромиография (ЭНМГ) – регистрация электрических потенциалов мышц и нервов в покое и в ответ на различные стимулы. Лазерная флоуметрия - для оценки тонуса микрососудов на основе величин амплитуд колебаний микрокровотока, которые обусловлены интенсивностью сокращений мышечной стенки сосуда, а значит, и диаметром просвета сосудов. Инфракрасная плетизмография - диагностический метод оценки состояния сосудистого тонуса, при котором производятся измерения различных параметров кровотока – скорости, объемных характеристик.

Дистантное тепловизионное исследование кожного температурного рельефа - измерение температуры кожных покровов пациента с накоплением в важных с диагностической точки зрения участках термограмм. Использование этих методик позволяет оценить состояние вегетативной нервной системы, которая играет важную роль в сохранении постоянства внутренней среды организма при различных изменениях окружающей среды и его внутреннего состояния. Сдвиги центральной вегетативной регуляции, происходящие при инсульте, являются отражением не только патологии управляющих структур нервной системы, но и формирования саногенетических процессов в организме больных. В таблицах 5 и 6 отражено количество пациентов, которым были проведены реабилитационные и диагностические мероприятия.

Таблица 5 - Методы реабилитации, применявшиеся у пациентов с ишемическим инсультом

Немедикаментозная терапия		
Метод	Количество пациентов	%
Электростимуляция	64	9,8
Физиотерапия	96	14,7
Массаж	247	37,7
ЛФК	177	27,0
Стабиллоплатформа	71	10,8

Таблица 6 - Инструментальные методы диагностики ишемического инсульта и эффективности его лечения

Методы исследования		Количество пациентов	%
Верификация ишемического инсульта	МРТ	174	22,3
	МСКТ	95	12,1
Электронейромиография		120	15,3
Дистантное тепловидение		148	18,9
Инфракрасная плетизмография		113	14,5
Лазерная доплеровская флоуметрия		132	16,9

В ходе реабилитации электромиостимуляция проводилась в пассивном и фантомно-импульсном режиме с помощью аппарата «ЭСМА», Россия. Стабиллоплатформа Приборная оценка состояния нервно-мышечной проводимости (электронейромиография) осуществлялась на комплексе «Нейро-МВП», производства компании «Нейрософт», Россия. Дистантная термография – на матричном тепловизоре СВИТ-1, произведен в ИФПП СО РАН, Россия. Лазерная доплеровская флоуметрия проводилась на анализаторе ЛАКК-01, произведенном НПП «Лазма», Россия.

2.4. Методы объективизации неврологического статуса

Модифицированная шкала Рэнкина, 1988

0 - Нет симптомов

1 - Отсутствие существенных нарушений жизнедеятельности, несмотря на наличие некоторых симптомов: способен выполнять все повседневные обязанности.

2 - Легкое нарушение жизнедеятельности: неспособен выполнять некоторые прежние обязанности, однако справляется с собственными делами без посторонней помощи.

3 - Умеренное нарушение жизнедеятельности: требуется некоторая помощь, однако способен ходить без посторонней помощи.

4 - Выраженное нарушение жизнедеятельности: неспособен ходить без посторонней помощи, неспособен справляться со своими физическими потребностями без посторонней помощи.

5 - Тяжелое нарушение жизнедеятельности: прикован к постели, недержание мочи и кала, требует постоянной помощи и присмотра персонала.

6 - смерть

Первая степень предполагает отсутствие признаков инвалидности, больной в состоянии выполнять без посторонней помощи все действия по уходу за собой. Однако это не исключает у больного наличия мышечной слабости, расстройств чувствительности, нарушений речи или других неврологических функций. Эти нарушения выражены в незначительной степени и не ведут к ограничению активности.

Вторая степень инвалидизации по Рэнкину предполагает наличие легких признаков инвалидности, но больной в состоянии ухаживать за собой без посторонней помощи. Например, не может вернуться к прежней работе, но способен обслуживать себя без постороннего присмотра.

Третья степень умеренно выраженные признаки инвалидности, больной нуждается в некоторой посторонней помощи при одевании, гигиеническом уходе

за собой; больной не в состоянии внятно читать или свободно общаться с окружающими. Больной может пользоваться ортопедическими приспособлениями или тростью.

Четвертая степень предполагает наличие выраженных признаков инвалидности. Больной не в состоянии ходить и ухаживать за собой без посторонней помощи, он нуждается в круглосуточном присмотре и в ежедневной посторонней помощи. При этом он в состоянии самостоятельно или при минимальной помощи со стороны выполнять какую-то часть мероприятий по уходу за собой.

Пятая степень сильно выраженные признаки инвалидности. Больной прикован к постели, неопрятен и нуждается в постоянном уходе и наблюдении.

Индекс активности повседневной жизни (VI) Бартел, 1955

Индекс Бартела был предложен Dorothea Barthel и начал использоваться с 1955 г. Изучалась и доказана высокая надежность теста (тест-ретестовая, межрейтинговая), а также его чувствительность: динамика оценки в 4 и более баллов (в случаях, когда максимальным баллом является 20) может считаться существенной, тогда как изменение оценки менее чем на 4 балла возникает чаще в связи с ошибкой измерения. Индекс Бартела включает 10 пунктов, относящихся к сфере самообслуживания и мобильности. Оценка уровня повседневной активности производится по сумме баллов, определенных у больного по каждому из разделов теста.

При заполнении индекса Бартела необходимо придерживаться следующих правил:

1. Индекс отражает реальные действия больного, а не предполагаемые.
2. Необходимость присмотра означает, что больной не относится к категории тех, кто не нуждается в помощи (больной не независим).
3. Уровень функционирования определяется наиболее оптимальным для конкретной ситуации путем расспроса больного, его друзей/родственников, однако важны непосредственное наблюдение и здравый смысл. Прямое тестирование не требуется.

4. Обычно оценивается функционирование больного в период предшествовавших 24-48 часов, однако иногда обоснован и более продолжительный период оценки.

5. Средние категории означают, что больной осуществляет более 50% необходимых для выполнения той или иной функции усилий.

6. Категория «независим» допускает использование вспомогательных средств.

7. Шкалой удобно пользоваться как для определения изначального уровня активности пациента, так и для проведения мониторинга с целью определения эффективности ухода.

Суммарный балл - 100. Показатели от 0 до 20 баллов соответствует полной зависимости, от 21 до 60 баллов - выраженной зависимости, от 61 до 90 баллов - умеренной, от 91 до 99 баллов - легкой зависимости в повседневной жизни.

Баллы по шкале Бартела начисляются следующим образом.

Прием пищи

10 - не нуждаюсь в помощи, способен самостоятельно пользоваться всеми необходимыми столовыми приборами

5 - частично нуждаюсь в помощи, например, при разрезании пищи

0 - полностью зависим от окружающих (необходимо кормление с посторонней помощью)

Персональный туалет (умывание лица, причесывание, чистка зубов, бритье)

5 - не нуждаюсь в помощи

0 - нуждаюсь в помощи

Одевание

10 - не нуждаюсь в посторонней помощи

5 - частично нуждаюсь в помощи, например, при одевании обуви, застегивании пуговиц и т.д.

0 - полностью нуждаюсь в посторонней помощи

Прием ванны

5 - принимаю ванну без посторонней помощи

0 - нуждаюсь в посторонней помощи

Контроль тазовых функций (мочеиспускания, дефекации)

20 - не нуждаюсь в помощи

10 - частично нуждаюсь в помощи (при использовании клизмы, свечей, катетера)

0 - постоянно нуждаюсь в помощи в связи с грубым нарушением тазовых функций

Посещение туалета

10 - не нуждаюсь в помощи

5 - частично нуждаюсь в помощи (удержание равновесия, использование туалетной бумаги, снятие и одевание брюк и т.д.)

0 - нуждаюсь в использовании судна, утки

Вставание с постели

15 - не нуждаюсь в помощи

10 - нуждаюсь в наблюдении или минимальной поддержке

5 - могу сесть в постели, но для того, чтобы встать, нужна существенная поддержка

0 - не способен встать с постели даже с посторонней помощью

Передвижение

15 - могу без посторонней помощи передвигаться на расстояния до 500 м

10 - могу передвигаться с посторонней помощью в пределах 500 м

5 - могу передвигаться с помощью инвалидной коляски

0 - не способен к передвижению

Подъем по лестнице

10 - не нуждаюсь в помощи

5 - нуждаюсь в наблюдении или поддержке

0 - не способен подниматься по лестнице даже с поддержкой

Индекс мобильности Ривермид, 1991

Значение индекса мобильности Ривермид соответствует баллу, присвоенному вопросом, на который врач может дать положительный ответ в отношении пациента. Перечень навыков и вопросов представлен в таблице 7.

Значение индекса может составлять от 0 (невозможность самостоятельного выполнения каких-либо произвольных движений) до 15 (возможность пробежать 10 метров).

Таблица 7 - Перечень вопросов для определения индекса мобильности Ривермид

№	Навык	Вопрос
1	Повороты в кровати	Можете ли вы повернуться со спины на бок без посторонней помощи?
2	Переход из положения лежа в положение сидя.	Можете ли вы из положения лежа самостоятельно сесть на край постели?
3	Удержание равновесия в положении сидя.	Можете ли вы сидеть на краю постели без поддержки в течение 10 секунд?
4	Переход из положения сидя в положение стоя.	Можете ли вы встать (с любого стула) менее чем за 15 секунд и удерживаться в положении стоя около стула 15 секунд (с помощью рук или, если требуется с помощью вспомогательных средств)?
5	Стояние без поддержки	Наблюдает, как больной без опоры простоит 10 секунд.
6	Перемещение	Можете ли вы переместиться с постели на стул и обратно без какой-либо помощи?
7	Ходьба по комнате, в том числе с помощью вспомогательных средств, если это необходимо.	Можете ли вы пройти 10 метров используя, при необходимости вспомогательные средства, но без помощи постороннего лица?
8	Подъем по лестнице	Можете ли вы подняться по лестнице на один пролет без посторонней помощи?
9	Ходьба за пределами квартиры (по ровной поверхности)	Можете ли вы ходить за пределами квартиры, по тротуару без посторонней помощи?
10	Ходьба по комнате без применения вспомогательных	Можете ли вы пройти 10 метров в пределах квартиры без костыля, ортеза и без помощи другого лица?

	средств.	
11	Поднятие предметов с пола	Если вы уронили что-то на пол, можете ли вы пройти 5 метров, поднять предмет, который вы уронили, и вернуться обратно?
12	Ходьба за пределами квартиры (по неровной поверхности)	Можете ли вы без посторонней помощи ходить за пределами квартиры по неровной поверхности (трава, гравий, снег и т.п.)?
13	Прием ванны	Можете ли вы войти в ванну (душевую кабину) и выйти из нее без присмотра, вымыться самостоятельно?
14	Подъем и спуск на 4 ступени	Можете ли вы подняться на 4 ступени и спуститься обратно, не опираясь на перила, но, при необходимости, используя вспомогательные средства?
15	Бег	Можете ли вы пробежать 10 метров не прихрамывая, за 4 секунды (допускается быстрая ходьба)?

Шкала оценки качества жизни при инсульте, SS-QOL, 1999 г.

Оценка: каждый показатель оценивается согласно следующим градациям:

Полностью зависим – Не может делать ничего - абсолютно согласен – 1 балл

Сильно зависим - Много трудностей - согласен – 2 балла

Частично зависим - Некоторые трудности - ни согласен, ни не согласен – 3 балла

Немного зависим – немного трудностей - несогласен – 4 балла

Независим – нет трудностей - абсолютно несогласен – 5 балла

ПОКАЗАТЕЛЬ

Энергичность

1 . Большую часть времени я чувствую себя усталым . _____

2 . В течение дня мне необходимо останавливаться, чтобы отдохнуть. _____

3 . Я был слишком усталым, чтобы сделать то, что хотел . _____

Роль в семье

1 . Я не участвую в деятельности семьи для удовольствия. _____

2 . Я чувствую, что я в тягость своей семье. _____

3 . Мое физическое состояние мешет моей личной жизни . _____

Речь

1 . У Вас есть трудности с речью ? Например, запинание, заикание или невнятность при произнесении слов ? _____

2 . испытываете ли Вы трудности с четким произнесением слов по телефону ? _____

3 . понимают ли окружающие сказанное Вами? ? _____

4 . Есть ли у Вас затруднения при подборе слов? _____

5 . есть ли у Вас необходимость повторять сказанное Вами, чтобы быть понятым? _____

Мобильность

1 . Испытываете ли Вы трудности при ходьбе ? (Если пациент не может ходить, оцените вопросы 2-3 как 1 балл и переходите к вопросу 4) _____

2 . Теряете ли Вы равновесие, наклоняясь за чем-либо или пытаясь достать что-либо ? _____

3 . Испытываете ли Вы трудности при подъеме по лестнице ? _____

4 . Испытываете ли Вы необходимость остановиться и передохнуть больше, чем Вы бы того хотели, при ходьбе или использовании инвалидного кресла ? _____

5 . Испытываете ли Вы трудности при стоянии ? _____

6 . Испытываете ли Вы трудности при вставании со стула? _____

Настроение

1 . Я был обескуражен своим будущим. _____

2 . Я не интересовался деятельностью других людей . _____

3 . Я чувствовал себя оторванным от других людей. _____

4 . Я не чувствую себя уверенным в себе. _____

5 . Я потерял интерес к еде. _____

Особенности характера

1 . Я был раздражительным. _____

2 . Я был нетерпелив с окружающими. _____

3 . Мой характер изменился. _____

Самообслуживание

1 . Нужна ли Вам помощь в приготовлении пищи ? _____

2 . Нужна ли Вам помощь при приеме пищи ? Например, при разрезании или приготовлении пищи ? _____

3 . Нужна ли Вам помощь при одевании? Например, при надевании носков или ботинок, застегивании пуговицы или молнии ? _____

4 . Нужна ли Вам помощь при принятии ванны или душа ? _____

5 . Нужна ли Вам помощь в пользовании туалетом ? _____

Социальная роль

1 . Я не выхожу так часто, как мне бы хотелось. _____

2 . Я занимаюсь своим хобби или развлекаюсь меньше по времени, чем мне бы того хотелось . _____

3 . Я вижу своих друзей меньше, чем мне бы того хотелось. _____

4 . Я занимаюсь сексом реже, чем мне бы того хотелось. _____

5 . Мое физическое состояние мешает моей социальной жизни. _____

Мышление

1 . Мне трудно концентрироваться . _____

2 . Мне трудно запоминать вещи . _____

3 . Мне нужно записывать, чтобы не забыть . _____

Функция верхней конечности

1 . испытываете ли Вы трудности при письме или печатании ? _____

2 . испытываете ли Вы трудности при надевании носков? _____

3 . испытываете ли Вы трудности при застегивании пуговиц? _____

4 . испытываете ли Вы трудности при застегивании молнии? _____

5 . испытываете ли Вы трудности при открывании банок? _____

Зрение

1 . Видите ли Вы телевизор настолько хорошо, чтобы получать удовольствие от программы? _____

2. испытываете ли Вы трудности при необходимости достать что-либо из-за плохого зрения? _____

3. испытываете ли Вы трудности при «провождении взглядом» в одну сторону? _____

Работа / производительность

1. испытываете ли Вы трудности при выполнении повседневной работы по дому? _____

2. испытываете ли Вы трудности при завершении начатой работы? _____

3. испытываете ли Вы трудности при выполнении привычной работы? _____

ИТОГОВЫЙ БАЛЛ _____

Трактовка тестирования по шкале SS-QOL включает рассмотрение каждого раздела с выявлением наиболее значимых ухудшение качества жизни, однако приемлем более простой вариант, учитывающий только общую сумму баллов (прямо пропорциональна уровню качества жизни пациента).

2.5. Характеристика молекулярно-генетических исследований

2.5.1. Материалы

В работе были использованы следующие реактивы: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, MgCl_2 , H_3BO_3 , ЭДТА, ПСА, бромистый этидий («Sigma»), Tween 20 («Serva», США), Tris base, акриламид, N,N-метилен бисакриламид, ТЕМЕД (все «ICN», США), этанол («Реахим», Россия). Дезоксинуклеозидтрифосфаты (dNTP), TaqMan-зонды и олигонуклеотидные праймеры были синтезированы в ИХБФМ СО РАН. Taq ДНК-полимераза (ИХБФМ СОРАН, Россия), «Biosun» (1 ед. акт./реакц.), эндонуклеазы рестрикции («Сибэнзим», Россия), Маркер молекулярных длин pBISK/MspI: 710, 489, 404, 328, 242, 190, 157, 147, 110, 67, 57 (ИХБФМ СО РАН).

В работе были использованы буферы и растворы:

1. Буфер для работы ферментов рестрикции («СибЭнзим») Blue: 10 mM Tris-HCl (pH 7.6 при $t = 25^\circ\text{C}$), 10 mM MgCl_2 , 1 mM DTT;

2. ПЦР-буфер C35N160 (10-кратный): 650 мМ Tris-HCl (pH 8.9 при $t = 25^{\circ}\text{C}$); 160 мМ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 0,5% Tween 20; 35 мМ MgCl_2 ;
3. ПЦР-буфер C35N240(10-кратный): 650 мМ Tris-HCl (pH 8.9 при $t = 25^{\circ}\text{C}$); 240 мМ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 0,5% Tween 20; 35 мМ MgCl_2 ;
4. Раствор dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP): 2 мМ каждый;
5. Буфер для электрофореза - TBEх10: 108 г Tris base, 50 г борной кислоты, 40 мл 0,5 М ЭДТА (pH 8,0), вода дистиллированная до 1 л;
6. Буфер для нанесения образцов ДНК при электрофорезе в агарозных гелях и ПААГ: 0,5% бромфеноловый синий, 0,5% ксилен цианол FF, 50% глицерин, в воде;
7. 30% раствор акриламида (30 г акриламида и 0,8 г бисакриламида на 100 мл воды);
8. TE (10 мМ Tris, 0,5 мМ ЭДТА, H_2O до 1 мл);

2.5.2. Методы выделения ДНК

Для молекулярно-генетического исследования взята венозная кровь путем пункции кубитальной вены. Образцы ДНК для генотипирования получены методом фенол-хлороформной экстракции из цельной венозной крови, стабилизированной 2,5% раствором ЭДТА в отношении 10:1, в полном соответствии с протоколом.

Выделение ДНК проводилось с помощью фенол-хлороформной экстракции (Bendeck M.P., 2002). Пробирки с клиническими образцами центрифугировали на 14 тыс. оборотов/мин. 15 минут. Осадок ресуспендировали в 300 мкл раствора №1 (100 мМ Tris HCl pH = 8,0; 10 мМ ЭДТА, 100мМ NaCl). Добавляли 50 мкл раствора №2 (10% додецил сульфат натрия (SDS)) и 10 мкл протеиназы К (10 мг/мл). Хорошо перемешивали и инкубировали 1 час при 55°C . Добавляли 200 мкл фенола, уравновешенного TE и 200 мкл хлороформа. Интенсивно перемешивали и центрифугировали 10 мин на максимальной скорости (14 т.о./мин). Верхнюю фазу переносили в чистую пробирку, не трогая нижнюю и

интерфазу. Добавляли 400 мкл хлороформа. Перемешивали и центрифугировали 5 мин на максимальной скорости (14 т.о./мин). Верхнюю фазу переносили в чистую пробирку. Добавляли 10 мкл ЛПААГ, 40 мкл 3М AcNa pH5.4, 800 мкл EtOH, тщательно перемешивали. Инкубировали ночь на -200°C . Центрифугировали 15 мин на максимальной скорости (14 т.о./мин). Супернатант удаляли, к осадку добавляли 400 мкл 75% EtOH. Инкубировали 10 мин при комнатной температуре. Отбирали супернатант, следя за тем, чтобы осадок остался в пробирке. Сушили пробирки с открытыми крышками в термостате для микропробирок при 370°C в течение 15 мин. К осадку добавляли 1000 мкл ЭДТА и прогревали при 65°C 10 минут.

2.5.3. Методы ПЦР/ПДРФ диагностики

Генотипирование однонуклеотидных замен. Данные полиморфные варианты представляют собой нуклеотидные замены, которые могут быть зарегистрированы по появлению или потере сайтов узнавания для ферментов эндонуклеазной рестрикции, что проявляется на электрофореграмме полиморфизмом длин рестрикционных фрагментов. Полимеразную цепную реакцию проводили в конечном объеме 15 мкл, содержащем 650 мМ трис-HCl (pH 8,9), 160 мМ сульфат аммония; 20 мМ MgCl_2 ; 0,05% Tween 20; 2 мМ dNTP; 0,5 мкМ растворы олигонуклеотидных праймеров, 20-100 нг ДНК и 1 ед. Taq-полимеразы. Реакцию проводили на амплификаторе «Eppendorf» с начальной денатурацией при 95°C 3 мин, далее в течение 42 циклов с денатурацией 5 сек при 95°C , отжигом 5 сек при $T_{\text{отжига}}$ и элонгацией 15 сек при 72°C . Финальная элонгация проводилась при 72°C 5 мин. Структуры праймеров и температура их отжига, длины амплификационных фрагментов, эндонуклеазы рестрикции и длины получаемых фрагментов, используемые для типирования полиморфных локусов методом ПДРФ-анализа, представлены в таблице 8.

Таблица 8 - Структуры праймеров и температура их отжига, длины амплификационных фрагментов, эндонуклеазы рестрикции и длины получаемых фрагментов используемые для типирования полиморфных локусов методом ПДРФ-анализа

Локус	Праймеры	Длина амплификац. фрагмента	T _{отж} праймеров, °С	Эндонуклеаза рестрикции	Аллели	Длины рестрикционных фрагментов
HIF1a C1772T, гипоксия-индуцированный фактор 1a	GTTACGTTCTTCGA TCAGTTGTGA	132	60	Kzo9I	C	108+24
	GTAGTGGTGGCATT GCAGTAGGATC				T	83+25+24
p22phox C242T, цитохром b-245, альфа-полипептид	AGGACGGCCCGAAC ATAG	445	62	RsaI	C	316+64+65
	GAGCTGGGCTGTTCC TTAACC				T	380+65

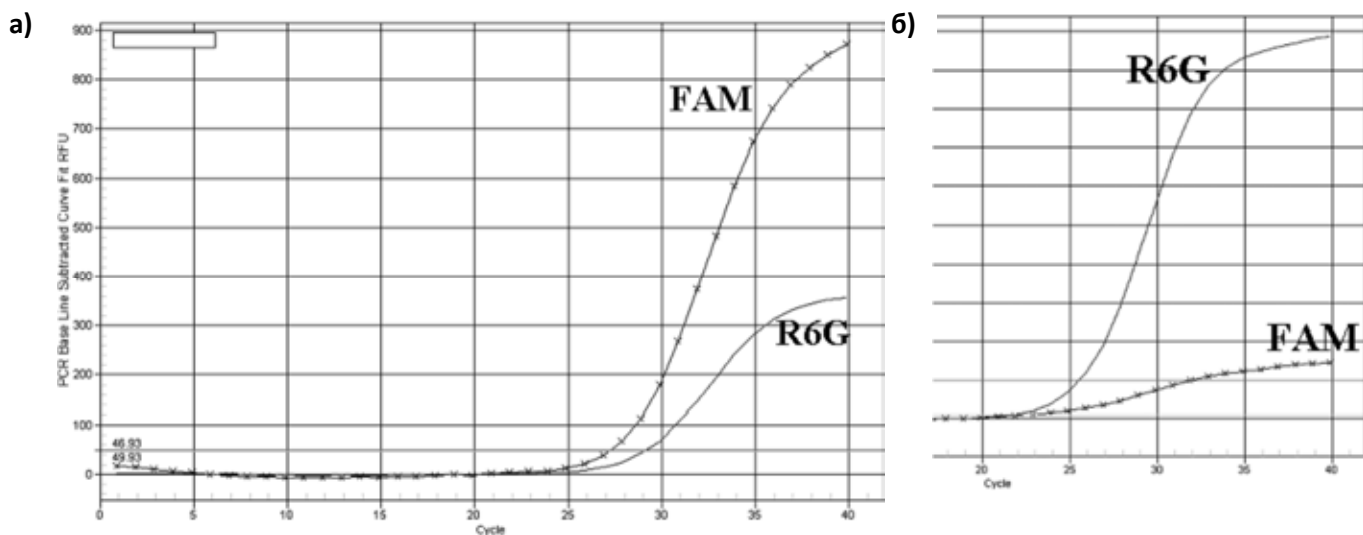
Для проведения ПДРФ-анализа полученных фрагментов ДНК, рестрикцию осуществляли следующим образом. К амплификационной смеси добавляли 1/10 объема 10-кратного буфера для рестрикции и эндонуклеазу рестрикции (1-3 ед. акт. фермента) и инкубировали 2 часа при 65°C. Буфер для рестрикции использовали с учетом рекомендаций производителя эндонуклеазы рестрикции. Фермент инактивировали добавлением 1 мкл 0,5М ЭДТА.

Анализ продуктов гидролиза проводили в 7% ПААГ, гель окрашивали бромистым этидием с визуализацией ДНК УФ-светом, затем фотографировали с помощью цифровой видеокамеры Vatec (Япония).

2.5.4. Генотипирование однонуклеотидных замен в режиме реального времени с использованием конкурирующих TaqMan-зондов, комплементарных полиморфным участкам ДНК

Генотипирование однонуклеотидных замен в генах MnSOD (rs4880) и GPX1 (rs1050450). На первом этапе исследования были разработаны методы генотипирования однонуклеотидных замен в генах MnSOD и GPX1 с помощью ПЦР в режиме реального времени с использованием конкурирующих TaqMan-зондов, комплементарных полиморфным участкам ДНК. Зонды отличаются по структуре на один нуклеотид, соответствующий SNP (находится в центре олигонуклеотидного зонда). В реакционной смеси зонды конкурируют друг с другом за гибридизацию с матрицей. При полной комплементарности матрицы и зонда гибридизация будет эффективнее, чем в случае неполной комплементарности. Следовательно, накопление флуоресцентного сигнала, соответствующего полностью комплементарному зонду, будет преобладать.

Основным параметром, который мы учитывали для каждой из реакций, являлось соотношение значений флуоресценции (relative fluorescence unit, или RFU) в диапазонах эмиссии красителей FAM и R6G. Для генотипа C/C (MnSOD) интенсивность флуоресценции увеличивалась преимущественно в диапазоне FAM, при генотипе T/T (MnSOD) интенсивность флуоресценции увеличивалась преимущественно в диапазоне R6G, при гетерозиготном генотипе интенсивность флуоресценции увеличивалась в обоих диапазонах.



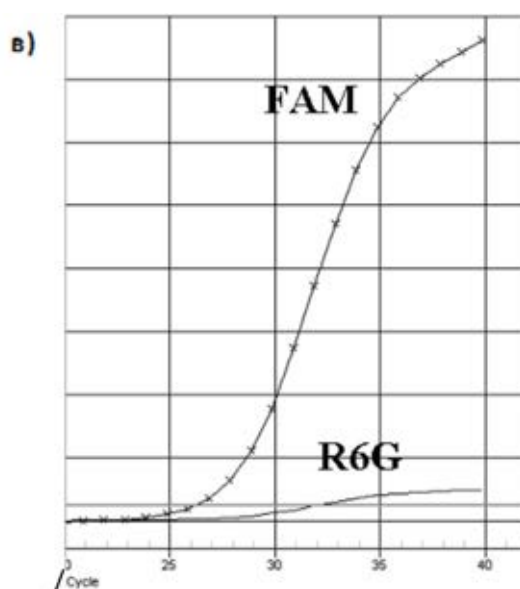


Рисунок 2 - Кинетические кривые накопления продукта амплификации участка гена MnSOD для генотипов: а) С/Т б) С/С, в) Т/Т

При оптимизации условий амплификации варьировали соотношение концентраций зондов, температуру отжига праймеров, состав амплификационного буфера. Достоверность генотипирования подтверждалась секвенированием. При оптимизации были подобраны условия, которые использовались для типирования (приведены в разделе «Материалы и методы»). На рис. 2 (а, б, в) представлены результаты, полученные с помощью Real-time PCR, иллюстрирующие вид кинетических кривых для каждого из генотипов гена (графики приведены для MnSOD; остальные – подобно). Важным критерием достоверности генотипирования служила кластеризация генотипов в группы, строившаяся на основе показателей интенсивности флюоресценции (в относительных единицах флюоресценции - RFU) (рис 3).

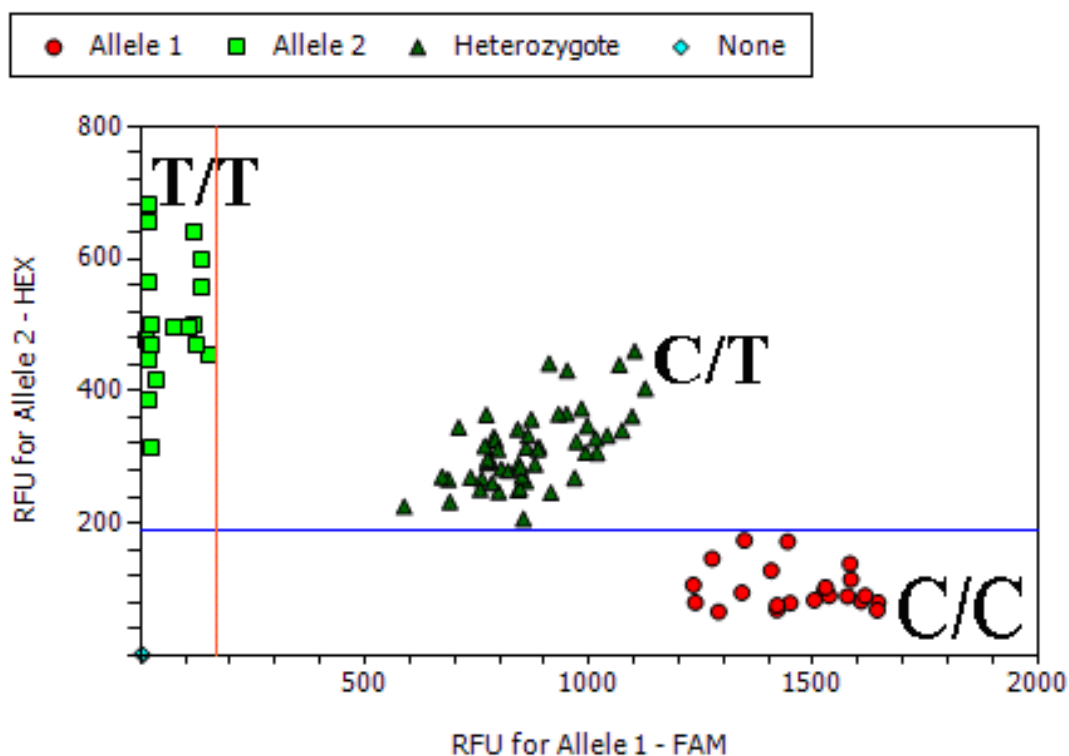


Рисунок 3 - Кластеризация образцов на основании значений RFU(MnSOD)

Каждый образец амплифицировался с использованием пары праймеров и двух зондов, несущих «гаситель» на 3'-конце и разные флюоресцентные красители (FAM либо R6G) на 5'-конце. Структуры праймеров и зондов приведены в таблице 1. Общий объем реакционной смеси составлял 25 мкл, смесь содержала 40-100 нг ДНК; 300 нМ каждого праймера; по 100-200 нМ Taqman-зондов, конъюгированных с FAM или R6G; 200 мкМ-ные dNTP, амплификационный буфер термостабильную Taq-полимеразу – 0,5 ед.акт./реакц. Структуры праймеров и зондов, используемых для генотипирования в режиме реального времени методом конкурирующих TaqMan-зондов, представлены в таблице 9.

Таблица 9 - Структуры праймеров и зондов, используемых для генотипирования в режиме реального времени методом конкурирующих TaqMan-зондов.

Локус	Праймеры	Зонды
MnSOD	5'-	5'-R6G-

С47Т, марганцевая супероксиддисмутаза	СТGTGCTTTCTCGTCTTCAG-3'	CTGGCTCCGG <u>T</u> TTTGGGG-FQ-3'
	5'-CGTTGATGTGAGGTTCCAG-3'	5'-FAM-CTGGCTCCGG <u>C</u> TTTGGGG-RTQ-3'
GPX-1 C599Т, глутатионпероксидаза-1	5'-GCTTCCAGACCATTGACATC-3'	5'-R6G-CTCAAGGGC <u>T</u> CAGCTGTGC-BHQ2-3'
	5'-CGAGGTGGTATTTTCTGTAA GATC-3'	5'-FAM-CTCAAGGGC <u>C</u> CAGCTGTGC-BHQ2-3'

ПЦР проводилась в следующих условиях: начальная денатурация 3' при 96°C; затем 40 циклов, включающих денатурацию при 96°C-8", отжиг праймеров и последующую элонгацию при 60°C- 35" (каждый шаг сопровождался регистрацией флюоресцентного сигнала в диапазонах, соответствующим интервалам флюоресценции флюорофоров FAM и R6G).

2.6. Статистические методы

Полученные результаты подвергались статистической обработке с вычислением средней арифметической (M) и стандартной ошибки средней арифметической (m). Достоверность различий сравниваемых параметров рассчитывалась с использованием критерия Стьюдента, величины нормированного отклонения Z и F – распределения вероятности. Различия считались значимыми при $p < 0,05$. Расчет производился с использованием пакета статистических программ "STATISTICA 6.0".

Частоты встречаемости аллелей и генотипов определяли прямым подсчетом. Оценка отклонения распределений генотипов изученных полиморфизмов ДНК от канонического распределения Харди-Вайнберга и анализ ассоциативных связей внутри генотипических сочетаний, а также оценку степени различий в частоте встречаемости аллелей, генотипов и межгенных комбинаций между исследуемыми группами проводили с помощью точного критерия Фишера.

Расчет показателя отношения шансов (OR – odds ratio) с 95% доверительным интервалом (CI – *confidence interval*) и *p*-значения проводилась с помощью онлайн-калькулятора, доступного по ссылке: <http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>.

Глава 3

РЕЗУЛЬТАТЫ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ДНК ПАЦИЕНТОВ СИБИРСКОГО РЕГИОНА

3.1. Результаты молекулярно-генетического анализа ДНК пациентов Сибирского региона, перенесших острое нарушение мозгового кровообращения

После проведения молекулярно-генетического тестирования частоты встречаемости генотипов по редким аллелям изучаемых генов определены прямым подсчетом в соответствии с разделением на клинические группы – пациенты с острым нарушением мозгового кровообращения по ишемическому типу (ИИ), а также контрольная группа. Распределения аллелей всех генов соответствуют равновесию Харди-Вайнберга, $p > 0,1$.

При рассмотрении распределений частот встречаемости генотипов, обращает внимание большее число пациентов с гомозиготным генотипом по редкому аллелю Т гена MnSOD в группе контроля, 29,7%, против 22,1% среди пациентов с ИИ. Однако для гетерозиготных генотипов отмечена обратная тенденция – в группе с ИИ его носителей больше на 4,1%.

Также, для редкого аллеля Т гена HIF1a выявлено большее количество носителей гетерозиготного генотипа в группе с ИИ, чем в контрольной группе, 18,6% против 10,5%, соответственно. Частоты встречаемости гомозиготного генотипа между группами не различаются.

Для частот встречаемости генотипов прочих рассмотренных генов – GPX, p22phox, BDNF, ApoE – значимых отличий обнаружено не было, разница между группами составляет не более 2-3% во всех случаях. Распределение частот встречаемости генотипов по изученным полиморфным вариантам в каждой группе в процентных соотношениях представлено в таблице 10.

Таблица 10 - Частота встречаемости генотипов полиморфных аллелей в группах исследования

Гены	Генотип	ИИ (%)	Распределение Харди-Вайнберга, (χ^2 Пирсона, df=1), p	Контрольная группа (%)	Распределение Харди-Вайнберга, (χ^2 Пирсона, df=1), p
MnSOD C47T марганцевая супероксиддисмутаза	ТТ	22,1	0.386418	29,7	0.896277
	СТ	53,1		49,0	
	СС	24,8		21,3	
GPX-1 C599T глутатионпероксидаза-1	ТТ	14,4	0.789968	13,0	0.821028
	СТ	45,9		44,6	
	СС	39,7		42,4	
P22phox C242T цитохром b-245, альфа-полипептид	ТТ	12,5	0.649296	10,8	0.208527
	СТ	40,5		41,2	
	СС	47,0		48,0	
HIF1a C1772T гипоксия-индуцированный фактор 1a	ТТ	0,7	1.000000	0,6	0.306621
	СТ	18,6		10,5	
	СС	80,7		88,9	
BDNF G196T нейротрофический фактор мозга	ТТ	55,5	0.748617	57,2	1.000000
	GT	37,7		36,8	
	GG	6,8		6,0	
ApoE E2/E3/E4 аполипопротеин E	E2/E2	0,8	0.270897* и 0.696571**	0,7	0.601222* и 0.657790**
	E2/E3	11,1		13,4	
	E2/E4	2,1		0,7	
	E3/E3	68,0		66,5	
	E3/E4	16,8		17,4	
	E4/E4	1,2		1,3	

* - распределение относительно полиморфного аллеля E2

** - распределение относительно полиморфного аллеля E4

Необходимо отметить, что для гена ApoE характерны 2 однонуклеотидные замены, которые формируют 3 возможных полиморфных аллеля - E2, E3, E4. Соответственно распределению аллелей существует 6 вариантов генотипа по полиморфным вариантам ApoE, как показано в таблице 4. Генотип E3/E3 – условно дикий тип, E2 и E4 – полиморфные аллели.

Данные частоты встречаемости генотипов по аллельным вариантам подвергнуты статистической обработке с вычислением отношения шансов (odds ratio, OR), доверительных интервалов, значения p, критерия χ^2 . Приведены результаты статистической обработки данных с указанием полиморфных вариантов, достоверно влияющих на риск развития ишемического инсульта.

3.2. Взаимосвязь риска развития ОНМК с полиморфизмами генов системы перекисного окисления липидов

С целью определения полиморфных вариантов, достоверно влияющих на риск развития ишемического инсульта, частоты генотипов изучаемых генов были попарно проанализированы в группах ИИ и здоровых лиц.

При сравнительном анализе распределения редкого аллеля гена глутатионпероксидазы MnSOD выявлена тенденция к развитию протективного эффекта у его носителей, риск инсульта у его гомо- и гетерозиготных носителей, а также общий риск снижен от 0,641 до 0,822, соответственно. Однако, статистически значимых различий не обнаружено, уровень значимости $p > 0,05$, что не позволяет рассматривать MnSOD как достоверный диагностический маркер. Результаты статистического анализа представлены в таблице 11.

Таблица 11 - Результаты статистического анализа частоты встречаемости полиморфизма MnSOD C47T

MnSOD	Аллель T				
	Аллель [C]←→[T]	Гетерозигот а [CC]←→[CT]	Гомозигота [CC+]←→[TT]	Носительст во аллеля [CC]←-	Общий риск для аллеля T

				>[CT+TT]	
	Odds_ratio=0. 802 C.I.=[0.625- 1.028] chi2=3.05 p=0.08080 (P)	Odds_ratio=0. 932 C.I.=[0.599- 1.449] chi2=0.10 p=0.75507	Odds_ratio=0. 641 C.I.=[0.387- 1.062] chi2=3.00 p=0.08349	Odds_ratio=0. 822 C.I.=[0.542- 1.248] chi2=0.85 p=0.35770	Odds_ratio=0. 799 chi2=3.12 p=0.07737
Аллель С					
	Аллель [T]<->[C]	Гетерозигот а [TT]<->[CT]	Гомозигота [TT]<->[CC]	Носительст во аллеля [CC+CT]<- >[TT]	Общий риск для аллеля С
	Odds_ratio=1. 248 C.I.=[0.973- 1.599] chi2=3.05 p=0.08080 (P)	Odds_ratio=1. 454 C.I.=[0.951- 2.225] chi2=2.99 p=0.08368	Odds_ratio=1. 560 C.I.=[0.942- 2.585] chi2=3.00 p=0.08349	Odds_ratio=1. 486 C.I.=[0.994- 2.223] chi2=3.75 p=0.05294	Odds_ratio=1. 252 chi2=3.12 p=0.07737

При сравнении частот встречаемости полиморфных аллелей генов GPX-1 и p22rhoх статистически значимых различий не обнаружено. Распределение относительно риска ишемического инсульта близко к единице во всех случаях, уровень значимости р более 0,1. Таким образом, коррелятивных связей носительства редких аллелей генов GPX-1 и p22rhoх и риска развития ишемического инсульта не выявлено. Результаты статистического анализа представлены в таблицах 12 и 13.

Таблица 12 - Результаты статистического анализа частоты встречаемости полиморфизма GPX-1 C599T

GP X	Аллель Т				
	Аллель [C]<->[T]	Гетерозигота [CC]<->[CT]	Гомозигота [CC+]<- >[TT]	Носительств о аллеля [CC]<- >[CT+TT]	Общий риск для аллеля Т

Odds_ratio=1.092 C.I.=[0.768-1.551] chi2=0.24 p=0.62453 (P)	Odds_ratio=1.100 C.I.=[0.659-1.837] chi2=0.13 p=0.71420	Odds_ratio=1.179 C.I.=[0.558-2.492] chi2=0.19 p=0.66622	Odds_ratio=1.118 C.I.=[0.690-1.813] chi2=0.21 p=0.65031	Odds_ratio=1.088 chi2=0.23 p=0.62808
Аллель С				
Аллель [Т]<->[С]	Гетерозигота [ТТ]<->[СТ]	Гомозигота [ТТ]<->[СС]	Носительство аллеля [СС+СТ]<->[ТТ]	Общий риск для аллеля С
Odds_ratio=0.916 C.I.=[0.645-1.301] chi2=0.24 p=0.62453 (P)	Odds_ratio=0.933 C.I.=[0.445-1.960] chi2=0.03 p=0.85552	Odds_ratio=0.848 C.I.=[0.401-1.793] chi2=0.19 p=0.66622	Odds_ratio=0.892 C.I.=[0.443-1.795] chi2=0.10 p=0.74847	Odds_ratio=0.919 chi2=0.23 p=0.62808

Таблица 13 - Результаты статистического анализа частоты встречаемости полиморфизма p22phox C242T

p22phox	Аллель Т				
	Аллель [С]<->[Т]	Гетерозигота [СС]<->[СТ]	Гомозигота [СС+]<->[ТТ]	Носительство аллеля [СС]<->[СТ+ТТ]	Общий риск для аллеля Т
	Odds_ratio=1.066 C.I.=[0.753-1.508] chi2=0.13 p=0.71808 (P)	Odds_ratio=1.007 C.I.=[0.619-1.638] chi2=0.00 p=0.97848	Odds_ratio=1.185 C.I.=[0.555-2.531] chi2=0.19 p=0.65985	Odds_ratio=1.044 C.I.=[0.661-1.649] chi2=0.03 p=0.85421	Odds_ratio=1.073 chi2=0.12 p=0.72711
	Аллель С				
Аллель [Т]<->[С]	Гетерозигота [ТТ]<->[СТ]	Гомозигота [ТТ]<->[СС]	Носительство аллеля [СС+СТ]<->[ТТ]	Общий риск для аллеля С	

	Odds_ratio=0.938 C.I.=[0.663-1.327] chi2=0.13 p=0.71808 (P)	Odds_ratio=0.849 C.I.=[0.393-1.834] chi2=0.17 p=0.67719	Odds_ratio=0.844 C.I.=[0.395-1.801] chi2=0.19 p=0.65985	Odds_ratio=0.846 C.I.=[0.410-1.746] chi2=0.20 p=0.65090	Odds_ratio=0.933 chi2=0.12 p=0.72711
--	--	--	--	--	--

В результате статистического анализа частоты встречаемости показано, что носительство полиморфного аллеля Т гена HIF1a статистически значимо увеличивает риск развития ишемического инсульта с OR=1,603, p=0,01058. Для гетерозиготных носителей аллеля Т риск развития ишемического инсульта выше в 1,952 раза (p=0,00460), а для гетеро- и гомозигот по редкому аллелю ТТ – в 1,922 (p=0,00474) раза по сравнению с обладателями дикого генотипа СС. Значение общего риска для данного аллеля составляет OR=1,702, p=0,00711, что указывает на наличие коррелятивных связей полиморфного варианта гена HIF1a и высокого риска развития ишемического инсульта. Результаты статистического анализа представлены в таблице 14.

Таблица 14 - Результаты статистического анализа частоты встречаемости полиморфизма С1772Т HIF1a

	Аллель Т				
	Аллель [С]<->[Т]	Гетерозигота [СС]<->[СТ]	Гомозигота [СС+]<->[ТТ]	Носительство аллеля [СС]<->[СТ+ТТ]	Общий риск для аллеля Т
НIF	Odds_ratio=1.800 C.I.=[1.170-2.767] chi2=7.32 p=0.00680 (P)	Odds_ratio=1.952 C.I.=[1.222-3.117] chi2=8.03 p=0.00460	Odds_ratio=1.394 C.I.=[0.195-9.977] chi2=0.11 p=0.73944	Odds_ratio=1.922 C.I.=[1.215-3.040] chi2=7.98 p=0.00474	Odds_ratio=1.702 chi2=7.25 p=0.00711
	Аллель С				

Аллель [Т]<->[С]	Гетерозигота [ТТ]<->[СТ]	Гомозигота [ТТ]<->[СС]	Носительств о аллеля [СС+СТ]<->[ТТ]	Общий риск для аллеля С
Odds_ratio=0.556 C.I.=[0.361-0.855] chi2=7.32 p=0.00680 (P)	Odds_ratio=1.400 C.I.=[0.188-10.421] chi2=0.11 p=0.74150	Odds_ratio=0.717 C.I.=[0.100-5.132] chi2=0.11 p=0.73944	Odds_ratio=0.789 C.I.=[0.110-5.640] chi2=0.06 p=0.81302	Odds_ratio=0.581 chi2=7.25 p=0.00711

При сравнении частот встречаемости полиморфных аллелей гена BDNF статистически значимых различий не обнаружено. Распределение относительно риска ишемического инсульта близко к единице во всех случаях, уровень значимости p более 0,1. Таким образом, коррелятивных связей носительства редкого аллеля Т гена BDNF и риска развития ишемического инсульта не выявлено. Результаты статистического анализа представлены в таблице 15.

Таблица 15 - Результаты статистического анализа частоты встречаемости полиморфизма BDNF G196T

	Аллель Т				
	Аллель [G]<->[T]	Гетерозигот а [GG]<->[GT]	Гомозигота [GG+]<->[TT]	Носительств о аллеля [GG]<->[GT+TT]	Общий риск для аллеля Т
BD NF	Odds_ratio=0.937 C.I.=[0.688-1.275] chi2=0.17 p=0.67674 (P)	Odds_ratio=0.900 C.I.=[0.397-2.039] chi2=0.06 p=0.80054	Odds_ratio=0.855 C.I.=[0.385-1.898] chi2=0.15 p=0.69986	Odds_ratio=0.873 C.I.=[0.399-1.907] chi2=0.12 p=0.73246	Odds_ratio=0.933 chi2=0.17 p=0.67843
	Аллель G				
	Аллель [T]<->[G]	Гетерозигот а [ТТ]<->[GT]	Гомозигота [ТТ]<->[GG]	Носительств о аллеля [GG+GT]<->	Общий риск для аллеля G

				>[TT]	
	Odds_ratio=1.068 C.I.=[0.785-1.453] chi2=0.17 p=0.67674 (P)	Odds_ratio=1.053 C.I.=[0.708-1.565] chi2=0.06 p=0.79995	Odds_ratio=1.170 C.I.=[0.527-2.597] chi2=0.15 p=0.69986	Odds_ratio=1.069 C.I.=[0.732-1.562] chi2=0.12 p=0.72997	Odds_ratio=1.072 chi2=0.17 p=0.67843

Ввиду наличия в гене ApoE трех полиморфных аллелей – E2, E3 и E4, был проведен двухступенчатый анализ частот встречаемости генотипов по этим аллелям относительно E2 и E4. При этом, в первом случае, условно диким типом считались генотипы E3/E3, E3/E4, E4/E4, гетерозиготами – E2/E3 и E2/E4, гомозиготным вариантом по редкому аллелю – E2/E2. Аналогично, в случае анализа относительно аллеля E4, условно диким типом считались генотипы E2/E2, E2/E3, E3/E3, гетерозиготами – E2/E4 и E3/E4, гомозиготным вариантом по редкому аллелю – E4/E4. При сравнении частот встречаемости полиморфных аллелей гена ApoE статистически значимых различий не обнаружено. Относительный риск ишемического инсульта близок к единице во всех случаях, уровень значимости p более 0,1. Таким образом, коррелятивных связей носительства полиморфных аллелей E2 и E4 гена ApoE и риска развития ишемического инсульта не выявлено. Результаты статистического анализа представлены в таблицах 16 и 17.

Таблица 16 - Результаты статистического анализа частоты встречаемости полиморфизма E2 ApoE

E 2	Аллель E2				
	Аллель [3, 4]<->[2]	Гетерозигота [33,34,44]<- >[23,24]	Гомозигота [33,34,44+]<- >[22]	Носительство аллеля [33,34,44]<- >[23,24+22]	Общий риск для аллеля E2
	Odds_ratio=0.957 C.I.=[0.599-1.529]	Odds_ratio=0.925 C.I.=[0.556-1.540]	Odds_ratio=1.227 C.I.=[0.146-10.280]	Odds_ratio=0.939 C.I.=[0.570-1.547]	Odds_ratio=0.975 chi2=0.03

chi2=0.03 p=0.85378 (P)	chi2=0.09 p=0.76480	chi2=0.04 p=0.85010	chi2=0.06 p=0.80436	p=0.85630
Аллели $\epsilon 3, \epsilon 4$				
Аллель [2]<->[3, 4]	Гетерозигота [22]<->[23,24]	Гомозигота [22]<->[33,34,44]	Носительство аллеля [33,34,44+23,2 4]<->[22]	Общий риск для аллелей $\epsilon 3, \epsilon 4$
Odds_ratio=1. 045 C.I.=[0.654- 1.670] chi2=0.03 p=0.85378 (P)	Odds_ratio=0. 754 C.I.=[0.086- 6.598] chi2=0.07 p=0.79799	Odds_ratio=0. 815 C.I.=[0.097- 6.828] chi2=0.04 p=0.85010	Odds_ratio=0.8 06 C.I.=[0.096- 6.747] chi2=0.04 p=0.84226	Odds_ratio=1. 028 chi2=0.03 p=0.85630

Таблица 17 - Результаты статистического анализа частоты встречаемости полиморфизма $\epsilon 4$ ApoE

E 4	Аллель $\epsilon 4$				
	Аллель [2, 3]<->[4]	Гетерозигота [22,23,33]<->[24,34]	Гомозигота [22,23,33+] <->[44]	Носительство аллеля [22,23,33]<- >[24,34+44]	Общий риск для аллеля $\epsilon 4$
	Odds_ratio=1. 025 C.I.=[0.682- 1.541] chi2=0.01 p=0.90540 (P)	Odds_ratio=1. 044 C.I.=[0.661- 1.649] chi2=0.03 p=0.85376	Odds_ratio=0. 933 C.I.=[0.199- 4.371] chi2=0.01 p=0.92948	Odds_ratio=1.0 36 C.I.=[0.664- 1.616] chi2=0.02 p=0.87517	Odds_ratio=1. 016 chi2=0.01 p=0.90607
	Аллели $\epsilon 2, \epsilon 3$				
	Аллель [4]<->[2, 3]	Гетерозигота [22]<->[23,24]	Гомозигота [44]<->[22,23,33]	Носительство аллеля [22,23,33+24,3 4]<->[44]	Общий риск для аллелей $\epsilon 2, \epsilon 3$
Odds_ratio=0. 976 C.I.=[0.649- 1.467] chi2=0.01	Odds_ratio=1. 119 C.I.=[0.229- 5.472] chi2=0.02	Odds_ratio=1. 072 C.I.=[0.229- 5.025] chi2=0.01	Odds_ratio=1.0 81 C.I.=[0.231- 5.054] chi2=0.01	Odds_ratio=0. 985 chi2=0.01 p=0.90607	

	p=0.90540 (P)	p=0.88920	p=0.92948	p=0.92126	
--	---------------	-----------	-----------	-----------	--

3.3. Коррелятивные связи частоты встречаемости полиморфизмов генов и особенностей течения реабилитационного периода у больных после ОНМК

В соответствии с дизайном исследования, пациенты группы с ишемическим инсультом были подразделены на 2 подгруппы: группа 1 – пациенты с отрицательной динамикой или отсутствием таковой, группа 2 – пациенты с положительной неврологической динамикой. Оценка производилась после проведения комплекса лечебно-реабилитационных мероприятий. Для оценки коррелятивных связей носительства полиморфных вариантов генов и течения реабилитационного периода определены частоты встречаемости генотипов по редким аллелям изучаемых генов в соответствии с разделением на подгруппы. Распределения аллелей всех генов соответствуют равновесию Харди-Вайнберга, $p > 0,1$.

При рассмотрении распределений частот встречаемости генотипов, обращает внимание большее число пациентов с гетерозиготным генотипом по редкому аллелю Т гена GPX-1 в группе 1, 51,1%, против 40,3% среди пациентов группы 2. Однако для гомозиготных генотипов отмечена обратная тенденция – в группе 2 его носителей больше на 3,3%.

Также, для редкого аллеля Т гена BDNF выявлено большее количество носителей гетерозиготного генотипа в группе 1, чем в группе 2, 39,9% против 33,6%, соответственно. Гомозиготные варианты на 8% чаще встречаются в группе 2, таким образом, тенденции также разнонаправленные.

Для частот встречаемости генотипов прочих рассмотренных генов – MnSOD, p22phox, HIF1a, ApoE – значимых отличий обнаружено не было, разница между группами составляет не более 2-3% во всех случаях. Распределение частот встречаемости генотипов по изученным полиморфным вариантам в каждой группе в процентных соотношениях представлено в таблице 18.

Таблица 18 - Частота встречаемости генотипов полиморфных аллелей в группах исследования

Гены	Генотип	Группа 1 (%)	Распределение Харди-Вайнберга, (χ^2 Пирсона, df=1), p	Группа 2 (%)	Распределение Харди-Вайнберга, (χ^2 Пирсона, df=1), p
MnSOD C47T марганцевая супероксиддисмутаза	ТТ	21,2	0.495262	23,0	0.721377
	СТ	53,3		52,4	
	СС	25,6		24,6	
GPX-1 C599T глутатионпероксидаза-1	ТТ	12,8	0.462600	16,1	0.173716
	СТ	51,1		40,4	
	СС	36,1		43,5	
P22phox C242T цитохром b-245, альфа- полипептид	ТТ	11,6	0.528805	13,2	0.266469
	СТ	40,5		40,6	
	СС	47,9		46,2	
HIF1a C1772T гипоксия- индуцированный фактор 1a	ТТ	1,4	0.677686	0	0.596796
	СТ	19,6		17,5	
	СС	79,0		82,5	
BDNF G196T нейротрофический фактор мозга	ТТ	52,4	1.000000	60,4	0.403667
	GT	39,9		33,6	
	GG	7,7		6,0	
ApoE ϵ2/ϵ3/ϵ4 аполипопротеин E	ϵ 2/ ϵ 2	0,6	0.270897* и 0.696571**	1,0	0.601222* и 0.657790**
	ϵ 2/ ϵ 3	12,1		10,2	
	ϵ 2/ ϵ 4	2,1		2,0	
	ϵ 3/ ϵ 3	66,4		69,4	
	ϵ 3/ ϵ 4	17,6		16,1	
	ϵ 4/ ϵ 4	1,2		1,3	

* - распределение относительно полиморфного аллеля E2

** - распределение относительно полиморфного аллеля E4

При сравнении частот встречаемости полиморфных аллелей генов MnSOD, GPX-1, p22phox, HIF1a, статистически значимых различий не обнаружено. Распределение относительно риска ишемического инсульта близко к единице во всех случаях, уровень значимости p более 0,1. Таким образом, коррелятивных связей носительства редких аллелей генов MnSOD, GPX-1, p22phox, HIF1a и особенностей течения периода реабилитации после ишемического инсульта не выявлено. Результаты статистического анализа представлены в таблицах 19-22.

Таблица 19 - Результаты статистического анализа частоты встречаемости полиморфизма MnSOD C47T

	Аллель Т				
	Аллель [С]<->[Т]	Гетерозигота [СС]<->[СТ]	Гомозигота [СС+]<->[ТТ]	Носительство аллеля [СС]<->[СТ+ТТ]	Общий риск для аллеля Т
MnSOD	Odds_ratio=1.057 C.I.=[0.751-1.489] chi2=0.10 p=0.74892 (P)	Odds_ratio=1.021 C.I.=[0.568-1.836] chi2=0.00 p=0.94527	Odds_ratio=1.129 C.I.=[0.557-2.288] chi2=0.11 p=0.73618	Odds_ratio=1.052 C.I.=[0.602-1.838] chi2=0.03 p=0.85994	Odds_ratio=1.062 chi2=0.11 p=0.74157
	Аллель С				
	Аллель [Т]<->[С]	Гетерозигота [ТТ]<->[СТ]	Гомозигота [ТТ]<->[СС]	Носительство аллеля [СС+СТ]<->[ТТ]	Общий риск для аллеля С
	Odds_ratio=0.946 C.I.=[0.672-1.332] chi2=0.10 p=0.74892 (P)	Odds_ratio=0.904 C.I.=[0.490-1.669] chi2=0.10 p=0.74718	Odds_ratio=0.886 C.I.=[0.437-1.795] chi2=0.11 p=0.73618	Odds_ratio=0.898 C.I.=[0.501-1.609] chi2=0.13 p=0.71802	Odds_ratio=0.942 chi2=0.11 p=0.74157

Таблица 20 - Результаты статистического анализа частоты встречаемости полиморфизма GPX-1 C599T

GPX	Аллель Т				
	Аллель [С]<->[Т]	Гетерозигота [СС]<->[СТ]	Гомозигота [СС+]<->[ТТ]	Носительство аллеля [СС]<->[СТ+ТТ]	Общий риск для аллеля Т
	Odds_ratio=0.916 C.I.=[0.640-1.310] chi2=0.23 p=0.63024 (P)	Odds_ratio=0.654 C.I.=[0.383-1.114] chi2=2.45 p=0.11742	Odds_ratio=1.046 C.I.=[0.492-2.224] chi2=0.01 p=0.90748	Odds_ratio=0.732 C.I.=[0.443-1.208] chi2=1.49 p=0.22203	Odds_ratio=0.962 chi2=0.23 p=0.63344
GPX	Аллель С				
	Аллель [Т]<->[С]	Гетерозигота [ТТ]<->[СТ]	Гомозигота [ТТ]<->[СС]	Носительство аллеля [СС+СТ]<->[ТТ]	Общий риск для аллеля С
	Odds_ratio=1.092 C.I.=[0.763-1.562] chi2=0.23 p=0.63024 (P)	Odds_ratio=0.625 C.I.=[0.297-1.313] chi2=1.55 p=0.21285	Odds_ratio=0.956 C.I.=[0.450-2.033] chi2=0.01 p=0.90748	Odds_ratio=0.762 C.I.=[0.379-1.533] chi2=0.58 p=0.44501	Odds_ratio=1.041 chi2=0.23 p=0.63344

Таблица 21 - Результаты статистического анализа частоты встречаемости полиморфизма p22phox C242T

p22phox	Аллель Т				
	Аллель [С]<->[Т]	Гетерозигота [СС]<->[СТ]	Гомозигота [СС+]<->[ТТ]	Носительство аллеля [СС]<->[СТ+ТТ]	Общий риск для аллеля Т
	Odds_ratio=1.083 C.I.=[0.751-1.560] chi2=0.18	Odds_ratio=1.040 C.I.=[0.619-1.747] chi2=0.02	Odds_ratio=1.193 C.I.=[0.549-2.589] chi2=0.20	Odds_ratio=1.074 C.I.=[0.661-1.745] chi2=0.08	Odds_ratio=1.083 chi2=0.17 p=0.68156

	p=0.66978 (P)	p=0.88162	p=0.65583	p=0.77278	
Аллель С					
	Аллель [Т]<->[С]	Гетерозигота [ТТ]<->[СТ]	Гомозигота [ТТ]<->[СС]	Носительство аллеля [СС+СТ]<->[ТТ]	Общий риск для аллеля С
	Odds_ratio=0.924 C.I.=[0.641-1.331] chi2=0.18 p=0.66978 (P)	Odds_ratio=0.872 C.I.=[0.397-1.918] chi2=0.12 p=0.73370	Odds_ratio=0.838 C.I.=[0.386-1.820] chi2=0.20 p=0.65583	Odds_ratio=0.854 C.I.=[0.409-1.785] chi2=0.18 p=0.67435	Odds_ratio=0.924 chi2=0.17 p=0.68156

Таблица 22 - Результаты статистического анализа частоты встречаемости полиморфизма С1772Т HIF1a

HIF	Аллель Т				
	Аллель [С]<->[Т]	Гетерозигота [СС]<->[СТ]	Гомозигота [СС+]<->[ТТ]	Носительство аллеля [СС]<->[СТ+ТТ]	Общий риск для аллеля Т
	Odds_ratio=0.756 C.I.=[0.425-1.344] chi2=0.91 p=0.33933 (P)	Odds_ratio=0.854 C.I.=[0.458-1.593] chi2=0.25 p=0.61972	Odds_ratio=0.210 C.I.=[0.010-4.417] chi2=1.89 p=0.16904	Odds_ratio=0.795 C.I.=[0.429-1.472] chi2=0.53 p=0.46501	Odds_ratio=0.790 chi2=0.94 p=0.33255
	Аллель С				
	Аллель [Т]<->[С]	Гетерозигота [ТТ]<->[СТ]	Гомозигота [ТТ]<->[СС]	Носительство аллеля [СС+СТ]<->[ТТ]	Общий риск для аллеля С
	Odds_ratio=1.323 C.I.=[0.744-2.351]	Odds_ratio=4.091 C.I.=[0.187-89.642]	Odds_ratio=4.772 C.I.=[0.226-100.572]	Odds_ratio=4.634 C.I.=[0.220-97.450]	Odds_ratio=1.688 chi2=0.94

chi2=0.91 p=0.33933 (P)	chi2=1.58 p=0.20888	chi2=1.89 p=0.16904	chi2=1.84 p=0.17495	p=0.33255
----------------------------	------------------------	------------------------	------------------------	-----------

При сравнительном анализе распределения редкого аллеля гена нейротрофического фактора мозга BDNF выявлена тенденция ассоциации с положительной неврологической динамикой в реабилитационном периоде у его носителей, отношение шансов для носителей аллеля, в том числе, гомозиготных, составляет 1,484. Однако, статистически значимых различий не обнаружено, уровень значимости $p > 0,05$, что не позволяет рассматривать BDNF как достоверный диагностический маркер. Результаты статистического анализа представлены в таблице 23.

Таблица 23 - Результаты статистического анализа частоты встречаемости полиморфизма BDNF G196T

		Аллель T				
		Аллель [G]<->[T]	Гетерозигот а [GG]<->[GT]	Гомозигота [GG+]<->[TT]	Носительств о аллеля [GG]<->[GT+TT]	Общий риск для аллеля T
BD NF		Odds_ratio=1.297 C.I.=[0.978-1.720] chi2=3.26 p=0.07096 (P)	Odds_ratio=1.082 C.I.=[0.525-2.226] chi2=0.05 p=0.83133	Odds_ratio=1.484 C.I.=[0.735-2.996] chi2=1.22 p=0.26839	Odds_ratio=1.310 C.I.=[0.659-2.603] chi2=0.60 p=0.43984	Odds_ratio=1.262 chi2=3.17 p=0.07498
		Аллель G				
		Аллель [T]<->[G]	Аллель [T]<->[G]	Аллель [T]<->[G]	Аллель [T]<->[G]	Аллель [T]<->[G]
		Odds_ratio=0.771 C.I.=[0.581-1.023] chi2=3.26 p=0.07096 (P)	Odds_ratio=0.729 C.I.=[0.504-1.053] chi2=2.84 p=0.09193	Odds_ratio=0.674 C.I.=[0.334-1.360] chi2=1.22 p=0.26839	Odds_ratio=0.720 C.I.=[0.507-1.022] chi2=3.39 p=0.06576	Odds_ratio=0.789 chi2=3.17 p=0.07498

Ввиду наличия в гене АроЕ трех полиморфных аллелей – $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ и $\epsilon 4$, был проведен двухступенчатый анализ частот встречаемости генотипов по этим аллелям относительно $\epsilon 2$ и $\epsilon 4$. При этом, в первом случае, условно диким типом считались генотипы $\epsilon 3/\epsilon 3$, $\epsilon 3/\epsilon 4$, $\epsilon 4/\epsilon 4$, гетерозиготами – $\epsilon 2/\epsilon 3$ и $\epsilon 2/\epsilon 4$, гомозиготным вариантом по редкому аллелю – $\epsilon 2/\epsilon 2$. Аналогично, в случае анализа относительно аллеля $\epsilon 4$, условно диким типом считались генотипы $\epsilon 2/\epsilon 2$, $\epsilon 2/\epsilon 3$, $\epsilon 3/\epsilon 3$, гетерозиготами – $\epsilon 2/\epsilon 4$ и $\epsilon 3/\epsilon 4$, гомозиготным вариантом по редкому аллелю – $\epsilon 4/\epsilon 4$. При сравнении частот встречаемости полиморфных аллелей гена АроЕ статистически значимых различий не обнаружено. Относительный риск ишемического инсульта близок к единице во всех случаях, уровень значимости p более 0,1. Таким образом, коррелятивных связей носительства полиморфных аллелей $\epsilon 2$ и $\epsilon 4$ гена АроЕ и особенностей реабилитационного периода после ишемического инсульта не выявлено. Результаты статистического анализа представлены в таблицах 24 и 25.

Таблица 24 - Результаты статистического анализа частоты встречаемости полиморфизма $\epsilon 2$ АроЕ

		Аллель $\epsilon 2$				
		Аллель [3, 4]<->[2]	Гетерозигота [33,34,44]<->[23,24]	Гомозигота [33,34,44+]<->[22]	Носительств о аллеля [33,34,44]<->[23,24+22]	Общий риск для аллеля $\epsilon 2$
Е 2		Odds_ratio=0.919 C.I.=[0.619-1.363] chi2=0.18 p=0.67277 (P)	Odds_ratio=0.844 C.I.=[0.548-1.300] chi2=0.59 p=0.44156	Odds_ratio=1.653 C.I.=[0.301-9.091] chi2=0.34 p=0.55939	Odds_ratio=0.877 C.I.=[0.576-1.336] chi2=0.37 p=0.54125	Odds_ratio=0.966 chi2=0.17 p=0.67892
	Аллели $\epsilon 3$, $\epsilon 4$					
		Аллель [2]<->[3, 4]	Аллель [2]<->[3, 4]	Аллель [2]<->[3, 4]	Аллель [2]<->[3, 4]	Аллель [2]<->[3, 4]
		Odds_ratio=1.089	Odds_ratio=0.511	Odds_ratio=0.605	Odds_ratio=0.591	Odds_ratio=1.051

C.I.=[0.734-1.615] chi2=0.18 p=0.67277 (P)	C.I.=[0.089-2.922] chi2=0.59 p=0.44296	C.I.=[0.110-3.327] chi2=0.34 p=0.55939	C.I.=[0.108-3.250] chi2=0.37 p=0.54124	chi2=0.17 p=0.67892
--	--	--	--	------------------------

Таблица 25 - Результаты статистического анализа частоты встречаемости полиморфизма $\epsilon 4$ ApoE

Аллель $\epsilon 4$					
	Аллель [2, 3]<->[4]	Гетерозигота [22,23,33]<->[24,34]	Гомозигота [22,23,33+]<->[44]	Носительство аллеля [22,23,33]<->[24,34+44]	Общий риск для аллеля $\epsilon 4$
E 4	Odds_ratio=0.926 C.I.=[0.663-1.295] chi2=0.20 p=0.65483 (P)	Odds_ratio=0.902 C.I.=[0.621-1.312] chi2=0.29 p=0.58979	Odds_ratio=1.032 C.I.=[0.274-3.884] chi2=0.00 p=0.96234	Odds_ratio=0.910 C.I.=[0.632-1.310] chi2=0.26 p=0.61124	Odds_ratio=0.939 chi2=0.20 p=0.65666
	Аллели $\epsilon 2, \epsilon 3$				
	Аллель [4]<->[2, 3]	Гетерозигота [22]<->[23,24]	Гомозигота [44]<->[22,23,33]	Носительство аллеля [22,23,33+24,34]<->[44]	Общий риск для аллелей $\epsilon 2, \epsilon 3$
	Odds_ratio=1.079 C.I.=[0.772-1.508] chi2=0.20 p=0.65483 (P)	Odds_ratio=0.874 C.I.=[0.225-3.395] chi2=0.04 p=0.84549	Odds_ratio=0.969 C.I.=[0.257-3.644] chi2=0.00 p=0.96234	Odds_ratio=0.950 C.I.=[0.253-3.566] chi2=0.01 p=0.93904	Odds_ratio=1.065 chi2=0.20 p=0.65666

Заклучение. Результаты молекулярно-генетического исследования групп с ишемическим инсультом и контрольной, а также сравнительный анализ между подгруппами с различным течением периода реабилитации показали, что носительство полиморфизма гена HIF1a является статистически достоверным, значимым маркером высокого риска развития ишемического инсульта.

Глава 4

НОВЫЕ ПОДХОДЫ В МЕДИЦИНСКОЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ, ОСНОВАННЫЕ НА КОМПЛЕКСНОЙ ПРЕЦИЗИОННОЙ РЕГИСТРАЦИИ ТЕМПЕРАТУРНОГО ОТКЛИКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕПЛОВИЗОРОВ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

4.1. Структура универсального диагностического комплекса

При поступлении пациента на реабилитационный курс по поводу перенесённого ишемического инсульта выполняли рутинную оценку неврологического статуса по общепринятым шкалам балльной оценки функционального состояния систем – шкала Рэнкина, шкала Бартел, индекс мобильности РИВЕРМИД, опросник для определения качества жизни SS-QOL.

Для комплексной оценки состояния больных после перенесенного ишемического инсульта, кроме стандартного исследования неврологического статуса при помощи шкал, были применены специальные инструментальные методики, позволяющие количественно определять состояние микроциркуляторного русла и нейро-мышечную проводимость, как в здоровых, так и в поражённых конечностях:

- 1) электронейромиография (ЭНМГ) – регистрация электрических потенциалов мышц и нервов в покое и в ответ на различные стимулы;
- 2) инфракрасная плетизмография (ИПГ) – диагностический метод оценки состояния сосудистого тонуса, при котором производятся измерения различных параметров кровотока – скорости, объемных характеристик, в том числе дается заключение о состоянии микроциркуляции в сегменте исследуемой конечности;
- 3) лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ) – метод исследования микроциркуляции в конкретной области, основанный на выделении ритмических составляющих гемодинамических потоков в тканях. Программное обеспечение позволяет исследовать и оценивать механизм активной и пассивной модуляции

тканевого кровотока, общий уровень периферической перфузии, выявить особенности состояния и регуляции кровотока в микроциркуляторном русле.

Мы дополнили стандартный протокол обязательным проведением дистантного термографического исследования высокого разрешения при поступлении пациента на курс реабилитационного лечения по поводу остаточных явлений перенесённого ОНМК.

На рисунке 4 представлен общий вид универсального диагностического комплекса в рабочем состоянии. Комплекс состоит из тепловизора, закрепленного на штативе, двух лазерных доплеровских флоуметров, пульсоксиметра, кардиомонитора, рабочее место врача оборудовано тремя персональными компьютерами.



Рисунок 4 - Общий вид универсального диагностического комплекса во время работы с пациентом

На рисунке 5 показано расположение компонентов диагностического комплекса на конечностях пациента. Манжета тонометра – на правой руке;

пульсоксиметр – на левой, датчики лазерных флоуметров крепятся к указательным пальцам обеих рук, электрод электронейромиографа - к пальцу левой ноги. Руки лежат на столике, свободно, ноги установлены параллельно. Обеспечивается поза для максимального обзора конечностей при проведении тепловизионного исследования.



Рисунок 5 - Компоненты диагностического комплекса: пульсоксиметрия, тонометрия, лазерная доплеровская флоуметрия

На рисунке 6 изображен матричный тепловизор ТКВр-ИФП «СВИТ», фиксированный к штативу, на расстоянии не менее 3 метров от пациента. На мониторах персональных компьютеров – получаемые в реальном времени изображения термограмм (слева) и графики, полученные при лазерной доплеровской флоуметрии (справа).

Во время работы на универсальном диагностическом комплексе также осуществляли мониторинг основных показателей жизнедеятельности –

артериального давления, частоты сердечных сокращений, сатурации кислорода. Портативные мониторирующие установки представлены на рисунке 7.



Рисунок 6 - Компонент диагностического комплекса: матричный тепловизор ТКВр-ИФП «СВИТ»



Рисунок 7 - Оборудование для мониторинга сердечно-сосудистой деятельности во время диагностических процедур

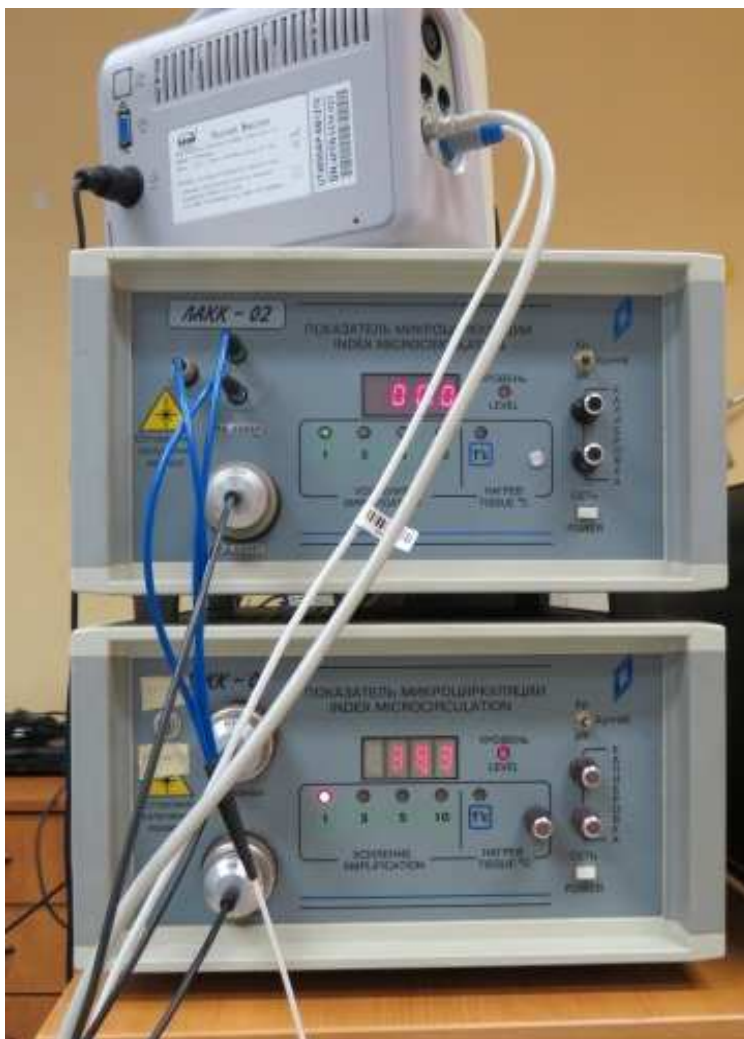


Рисунок 8 - Лазерные доплеровские флоуметры ЛАКК-01 и ЛАКК-02



Рисунок 9 - Рабочее место врача-исследователя во время проведения диагностических процедур

На рисунке 8 представлен компонент диагностического комплекса – лазерные доплеровские флоуметры ЛАКК-01 и ЛАКК-02, работа на которых проводилась одновременно.

Для обеспечения синхронной работы универсального диагностического комплекса и одновременного отображения мониторируемых показателей, рабочее место врача-исследователя оборудовано тремя персональными компьютерами. На рисунке 9 изображен диагностический комплекс во время работы, на мониторах отображаются (слева направо) термограммы, электромиограммы, ЛДФ-граммы.

На рисунке 10 представлен компонент универсального диагностического комплекса – инфракрасная плетизмография нижних конечностей. Прибор укомплектован наушниками для лучшей слышимости плетизмограмм. Инфракрасную плетизмографию выполняли при наличии показаний дополнительно вне времени проведения исследований на универсальном диагностическом комплексе.



Рисунок 10 - Проведение процедуры инфракрасной плетизмографии

4.2. Методология балльной оценки динамики неврологического статуса и применения универсального диагностического комплекса в неврологической практике

Шкальная оценка неврологического статуса. В нашем исследовании были использованы шкалы оценки состояния неврологического больного: шкала Рэнкина, шкала Бартел, индекс мобильности РИВЕРМИД, опросник для определения качества жизни SS-QOL, в соответствии с рекомендациями Национальной ассоциации по борьбе с инсультом (ГОД), что определяет высокий уровень научно-методологического подхода к оценке результатов реабилитации пациентов с ОНМК. Это продиктовано необходимостью расширения рутинного подхода к важным вопросам социальной и медицинской реабилитации пациентов, перенесших ишемический инсульт.

С целью определения характера динамики неврологического статуса пациентов, перенесших ишемический инсульт, и оценки прогноза исхода

заболевания, был разработан алгоритм оценки неврологического статуса с использованием стандартных неврологических шкал.

Для определения цифровых лимитов градации тяжести состояния пациентов были приняты значения балльных шкал, представленные в таблице 26.

Таблица 26 - Распределение баллов неврологических шкал для оценки общего состояния пациента

Состояние пациента	Шкала Рэнкина	Шкала Бартела	Шкала Ривермид	SS-QOL
Тяжелое	4-5	0-50	0-30	12-9
Средней степени	3-4	50-70	30-60	9-4
Удовлетворительное	1-2	70-100	60-90	4-1

Это дало возможность детально и персонализировано подойти к оценке общего и неврологического статуса каждого пациента, и в то же время комплексно оценить функциональное состояние нервной системы и изменение качества жизни в ходе лечения и реабилитации по поводу перенесённого ишемического инсульта.

Для оценки наблюдаемой динамики неврологического статуса в результате проведённых реабилитационных мероприятий были сформированы группы 1 и 2 – пациенты с ухудшением состояния и отсутствием динамики в неврологическом статусе, а также пациенты с положительными изменениями в неврологическом статусе, соответственно. В соответствии с принятым оригинальным алгоритмом оценки динамики неврологического статуса, каждый пациент после курса лечения и реабилитации индивидуально объективно оценивался по изменениям балльной оценки по каждой из применяемых шкал.

Уменьшение или увеличение суммы баллов по каждой шкале в отдельности оценивали как ухудшение или улучшение в неврологическом статусе. Основными критериями для оценки статуса являлись шкалы Рэнкина и Бартела, Ривермид и SS-QOL – вспомогательными. В случае разнонаправленной динамики по шкалам Рэнкина и Бартела, распределение пациентов в группы проводилось после

умозрительной оценки общего состояния, субъективного определения самочувствия. Если такой анализ не давал убедительного результата – пациента выводили из исследования с трактовкой «неопределенный результат». Подробное распределение соответствий разницы в балльной оценке и динамики неврологического статуса представлено в таблице 27.

Таблица 27 - Количественная оценка характера динамики неврологического статуса по четырем шкалам

	Шкала Рэнкина	Шкала Бартела	Шкала Ривермид	SS-QOL
Без динамики	Отсутствие изменения по баллам	Отсутствие изменения по баллам	Отсутствие изменения по баллам	Отсутствие изменения по баллам
Положительная динамика	Снижение на 1-2 балла	Повышение на 10 и более баллов	Повышение на 10 и более баллов	Снижение на 1 и более
Отрицательная динамика	Повышение на 1 балл	Снижение на 10-20 баллов	Снижение на 10-20 баллов	Повышение на 2-4 балла
Значительное ухудшение	Повышение на 2 балла	Снижение на 20 и более баллов	Снижение на 20 и более баллов	Повышение на 4 и более баллов

Таким образом, применение использованного нами методологического подхода в трактовке балльных шкал при оценке неврологического статуса, группировке по количественному балльному признаку пациентов по тяжести состояния и результатов проведённого лечения позволило выявить признаки высокого риска развития ишемического инсульта в группах исследования и разработать достоверную методику оценки эффективности проводимого лечения или реабилитации после перенесённого ОНМК.

Тепловизионные исследования в неврологической практике. В рамках выполнения исследовательских работ нами была осуществлена разработка протокола диагностического поиска нарушений терморельефа в здоровых и

поражённых конечностях у больных в период реабилитационного курса лечения после перенесённого инсульта.

Был применён “Тепловизор компьютерный для исследования в реальном масштабе времени ТКВр-ИФП “СВИТ”, предоставленный Институтом физики полупроводников им. А.В. Ржанова Сибирского отделения РАН. Тепловизионное дистантное исследование применялось в составе комплексной программы диагностики состояния микроциркуляции у пациентов с острыми нарушениями мозгового кровообращения на различных сроках реабилитации.

Протокол исследования терморельефа кожных покров конечностей у пациентов, перенесших ОНМК, с помощью тепловизора ТКВр-ИФП «СВИТ».

Цель исследования:

Выявить особенности терморельефа кожных покровов поражённых (паретичных) и непоражённых конечностей у пациентов после перенесённого ОНМК.

Длительность исследования.

Исследование краткосрочное, разовое.

Информированное согласие:

Письменное информированное согласие получено до включения пациента в исследование.

Критерии включения

- возраст от 18 до 80 лет
- мужской и женский пол
- наличие перенесённого ОНМК по ишемическому типу любой локализации

в анамнезе

- способность к самостоятельному передвижению

Критерии исключения

- отсутствие ОНМК в анамнезе
- тяжёлые соматические, психические заболевания, обострения хронических процессов на момент включения в исследование

Клинические критерии:

1. Объективный осмотр, оценка неврологического статуса.
2. Опрос, внесение данных осмотра, анамнеза в историю болезни пациента

Тепловизионное исследование осуществлялось в условиях стационарного отделения, в специально отведённом помещении на территории специализированного неврологического отделения. Исследование проводили в вертикальном положении, без верхней одежды. Время экспозиции пациента перед исследованием не ограничивалось. Тепловизор дистанцировался на 2-2,5 м от пациента. Осуществляли съемку терморельефа кожных покровов сначала верхней половины тела – «изображение верхних конечностей», затем – нижней половины тела – «изображение нижних конечностей». Фиксацию данных осуществляли в режиме «непрерывной видеосъемки» в течение 1 мин на каждую исследуемую область. В процессе фиксации данных перемещали тепловизор вправо и влево на 30-50 см в одном горизонте.

По окончании исследования из видеоряда выбирались статичные кадры, где исследуемые конечности были расположены максимально симметрично – для максимально точной оценки разницы температур справа и слева. Изображения документировались в виде файлов с расширением JPG, BMP, AVI. В окне обработки изображения вносились данные пациента с указанием фамилии, имени, отчества, даты рождения, диагноза, номера истории болезни. Готовые электронные файлы формировали простую базу данных.

Применение универсального диагностического комплекса в неврологической практике. По показаниям пациентам проводили инструментальные исследования, предусмотренные стандартами обязательного медицинского страхования.

Учитывая полученные при проведении дистантной термографии высокого разрешения у пациентов в различные сроки после перенесенного ОНМК новые данные, позволяющие судить о состоянии микроциркуляции в пораженных конечностях, исследования на универсальном диагностическом комплексе проводили согласно разработанному Протоколу исследования терморельефа кожных покров конечностей у пациентов, перенесших ОНМК, с помощью

тепловизора ТКВр-ИФП «СВИТ» (ИФПП СО РАН, г. Новосибирск), модифицированному для проведения указанных выше методик исследования – лазерная доплеровская флоуметрия, электромиография, инфракрасная плетизмография.

Показаниями для проведения исследований считали:

- наличие перенесённого ОНМК любой локализации и тяжести в анамнезе;
- наличие пареза верхних и/или нижних конечностей в результате перенесённого ОНМК.

Противопоказаниями для проведения исследований считали:

- нестабильное состояние или ухудшение состояния пациента;
- неустойчивость пациента в вертикальном положении;
- выраженный тремор конечностей.

Проведённые нами клинические исследования в части определения безопасности тепловизионного исследования (ТВИ) в группах пациентов не выявили каких-либо противопоказаний для использования данного метода в клинической практике в группах пациентов, определённых Протоколом. Исследование является неинвазивным, не требует специальной подготовки пациента. Разработанный диагностический протокол позволяет получить развернутую дополнительную информацию о состоянии микроциркуляции в паретичных конечностях, получить новые данные о ее состоянии после перенесенного ОНМК. Применение исследований на диагностическом комплексе очень информативно для визуализации нарушений микроциркуляции, их количественной оценки, а также составления плана лечения и реабилитации после ОНМК.

Заключение. В ходе исследований разработаны новые подходы в функциональной диагностике, которые могут быть применены в неврологической практике. Приведены структура универсального диагностического комплекса, методология его применения у пациентов, перенесших ОНМК, а также методология рутинного тепловизионного обследования. Данные функциональные

методики являются неинвазивными, безопасными, и открывают новые перспективы в количественной диагностике нарушений микроциркуляции конечностей, в частности, после инсульта. Методики удобны, просты в применении, и могут быть рекомендованы для рутинного применения в комплексе диагностики и реабилитации.

Глава 5

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ РЕАБИЛИТАЦИОННЫХ МЕРОПРИЯТИЙ ПРИ ОНМК С ПОМОЩЬЮ УНИВЕРСАЛЬНОГО ДИАГНОСТИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА

5.1. Анализ результатов лечения пациентов после перенесённого ишемического инсульта при использовании стандартной программы реабилитации

На основании описанного алгоритма проведения диагностических процедур сформированы группы исследования через 6 месяцев после проведенного лечения. Распределение средних значений баллов шкал в группах исследования приведено в таблице 28.

Таблица 28 - Распределение средних значений баллов неврологических шкал в группах с ишемическим инсультом

Группа	Рэнкин	Бартел	РИВЕРМИД	SS-QOL
Группа 1	3,04 ± 0,03*	55,59 ± 0,63*	54,04 ± 0,62*	7,27 ± 0,10
Группа 2	2,54 ± 0,04*	60,64 ± 0,48*	56,30 ± 0,77*	8,36 ± 0,10

* - статистически значимые различия между группами 1 и 2, $p < 0,000001$.

Проведен анализ полученных данных оценки неврологического статуса каждого пациента между группами 1 и 2 с использованием каждой шкалы в отдельности. Для шкалы Рэнкина разница между средними значениями в группах составила 0,5 балла, причем в группе 2 оценка по этой шкале ниже. Выявленные различия статистически достоверны: t-критерий = 10,127, $p < 0,000001$. При оценке статуса по шкале Бартел в группе 2 (с улучшением) прирост в среднем составил около 5 баллов – 55,59 в группе 1 и 60,64 в группе 2. Различия также статистически достоверны – t-критерий = -6,446, $p < 0,000001$. Таким образом, по двум основным критериям распределения пациентов в группы 1 и 2 выявлены

достоверные различия по количеству баллов, что свидетельствует о значимых отличиях между группами.

По вспомогательным критериям оценки неврологического статуса также выявлены различия. Разница в баллах по индексу мобильности Ривермид составила около 2 баллов с увеличением в группе 2, что статистически достоверно свидетельствует о повышении мобильности пациентов во 2 группе – t-критерий = -7,745, $p < 0,000001$. Однако, применение опросника для оценки качества жизни после перенесенного ишемического инсульта показало, что значительной разницы в зависимости от неврологической динамики нет, различия средних значений около 1 балла. Кроме того, средняя оценка изменения качества жизни в группе с улучшением (в группе 2) оказалась более негативной, чем в группе с ухудшением состояния. Анализ данных выявил статистически значимые различия: t-критерий = -2,225, $p = 0,0264$, хотя уровень значимости не столь высок. В целом, учитывая статистически достоверные различия между группами по использованным в работе показателям, распределение в группы в зависимости от балльной оценки динамики неврологического статуса можно считать эффективным и соответствующим объективным признакам положительных и отрицательных изменений.

В ходе работы сформированы 3 группы исследования для проведения сравнительного анализа эффективности лечебно-диагностических мероприятий. Группу контроля составили 500 человек без нарушений мозгового кровообращения и кардиологической патологии. Пациенты с ОНМК были разделены на 2 группы: 1-я – пациенты с отрицательной динамикой в неврологическом статусе или ее отсутствием, 2-я – пациенты с улучшением. Оценку проводили спустя 6 месяцев после перенесенного ишемического инсульта по разработанной автором методике на основании неврологических шкал. Гендерно-возрастная характеристика групп представлена в таблице 29. Группы сопоставимы по полу и возрасту, $p > 0,1$.

Таблица 29 - Гендерно-возрастная характеристика групп исследования

Клинические группы	Гендерная характеристика	Средний возраст, лет
Группа 1	172 женщины (51,04%) 165 мужчин (48,96%)	67,38±0,87
Группа 2	170 женщин (41,56%) 239 мужчин (58,44%)	67,55±0,76
Группа контроля	340 женщин (68%) 160 мужчин (32%)	54,42±0,55

С целью определения факторов, влияющих на исход ишемического инсульта и его прогноз, была оценена частота встречаемости факторов риска ОНМК среди пациентов групп 1 и 2. Учитывались сопутствующие заболевания, сопряженные с повышением сердечно-сосудистого риска, конституциональные и генеалогические особенности, вредные привычки. Характеристика и частоты встречаемости выявленных факторов риска представлены в таблице 30.

Таблица 30 - Клинико-эпидемиологическая характеристика пациентов с ишемическим инсультом

Фактор риска	Группа 1	%	Группа 2	%
Сахарный диабет	147	43,6*	109	26,7*
В том числе, 1 типа	147	43,6*	99	24,2*
В том числе, 2 типа	0	0	10	2,4*
Ишемическая болезнь сердца	219	65,0	214	52,3
Артериальная гипертензия	319	94,7	380	92,9
Гиперхолестеринемия	255	75,7	288	70,4
Ожирение	137	40,7	149	36,4
Курение	117	34,7	189	46,2
Прием алкоголя	133	39,5	161	39,4
ОНМК в анамнезе	140	41,5	155	37,9
Отягощенная по ИИ наследственность	154	45,7*	258	63,1*

* - статистически значимые различия между группами 1 и 2, $p < 0,05$.

Анализ полученных результатов показал, что преимущественное наличие сахарного диабета 1 типа в первой группе исследования (43,6 % наблюдений)

имеет статистически достоверные отличия от данных, полученных в группе 2 (26,7 % наблюдений) – критерий Хи-квадрат = 6,31, $p = 0,012$. Также, наблюдается достоверно большая распространенность сахарного диабета 1 типа в обеих группах, в группе 1 СД 2 типа не выявлено, в группе 2 частота встречаемости СД 1 выше в 10 раз – 24,6% против 2,4% с СД 2 типа, Хи-квадрат = 18,88, $p < 0,0001$.

В качестве факторов риска рассматривались заболевания сердечно-сосудистой системы. В группе 1 распространенность ишемической болезни сердца несколько выше (65,0%), чем во 2 группе исследования (52,3%), различия оказались недостоверными – Хи-квадрат = 3,48, $p = 0,062$. Также, наблюдается преимущественное наличие таких факторов риска, как артериальная гипертензия и гиперхолестеринемия, в 1 группе исследования: 94,7% против 92,9% для АГ и 75,7% против 70,4% для гиперхолестеринемии, соответственно. Анализ результатов показал отсутствие статистически значимых различий – Хи-квадрат = 0,35, $p = 0,551$ и Хи-квадрат = 0,91, $p = 0,339$, соответственно.

При анализе данных такой фактор риска, как ожирение, выявлен более, чем у 1/3 пациентов каждой группы исследования. При этом, в группе 1 это состояние встречалось несколько чаще – в 40,7% случаев, а в группе 2 – в 36,4%. Различия не являются статистически значимыми: Хи-квадрат = 0,53, $p = 0,467$.

В обеих группах исследования проанализирована распространенность курения и приема алкоголя. Частота встречаемости алкоголизма среди пациентов обеих групп оказалась одинаковой – 39,5% в группе 1 и 39,4% в группе 2. Однако, обнаружено преимущественное наличие курящих пациентов в группе 2 – 46,2%, тогда как в группе 1 меньше – 34,7%. В ходе анализа полученных результатов Хи-квадрат составил 2,51, и различия статистически недостоверны: $p = 0,113$.

Частота встречаемости пациентов, перенесших острое нарушение мозгового кровообращения 2 и более раза, оказалась значительной в обеих группах исследования – 41,5% в группе 1 и 37,9% в группе 2. Различия между группами статистически не значимы – Хи-квадрат = 0,33, $p = 0,564$.

Семейный анамнез (наличие ишемического инсульта хотя бы у одного из родственников) также проанализирован в обеих группах исследования. Выявлена

достоверно более низкая распространенность данного фактора риска в группе 1, где он встречается у 45,7% пациентов, чем в группе 2, в которой пациентов с отягощенной по ИИ наследственностью более половины – 63,1%, Хи-квадрат = 5,83, $p = 0,016$.

С целью комплексного обследования пациентов, верификации диагноза, выявления количественных характеристик нарушений микроциркуляции и нейромышечной проводимости, в обеих группах пациентов с ОНМК проведено обследование в соответствии с диагностическим алгоритмом. Нейровизуализация проведена в 100% случаев. Для комплексного обследования использован универсальный диагностический комплекс, состав, методика использования разработаны и описаны в главе 3. Количество обследованных пациентов в группах представлено в таблице 31.

Таблица 31 - Методы инструментального обследования пациентов, перенесших ишемический инсульт, и распределение количества обследованных в группах

Методы исследования		Группа 1	%	Группа 2	%
Верификация ишемического инсульта	МРТ	219	65,0	308	75,3
	МСКТ	124	36,8	101	24,7
	В том числе, МРТ + МСКТ	6	1,8	0	0
Электронеуромиография		51	15,1	83	20,3
Дистантное тепловидение		68	20,2	98	24,0
Инфракрасная плетизмография		52	15,4	76	18,6
Лазерная доплеровская флоуметрия		61	18,1	90	22,0

Пациентам в обеих группах исследования проведено сопоставимое в процентном отношении количество каждого типа обследований, $p > 0,4$.

Результаты. Разработанная программа оценки состояния микроциркуляции у неврологических больных с использованием инфракрасной плетизмографии, лазерной доплеровской флоуметрии, дистантного тепловизионного исследования и электронеуромиографии использована для обследования 151

пациента с ишемическим инсультом. Из них 67 женщин (44,4%) и 84 мужчин (55,6%). Средний возраст 67,6 лет. Сроки давности инсультов от 1 месяца до 5 лет. Длительность наблюдения составила: в течение 3-х лет наблюдались 52 человека (34,4%), они прошли от 3 до 6-х курсов реабилитационного лечения. Длительность наблюдения 2 года - 64 человека (42,4%), пациенты получили от 1 до 4-х курсов реабилитационного лечения. Длительность наблюдения 1 год: 48 человек (31,8%), количество реабилитационных курсов – 1-2. Из 151 больных 24 человека прекратили реабилитационное лечение в связи с различными обстоятельствами (смерть, социальные и бытовые факторы) (15,9%).

В результате проведенного реабилитационного лечения положительная неврологическая динамика отмечалась у 92,1 % пациентов – 139 человек. Расценивалась она в виде:

- нарастания силы в паретичных конечностях у 70,9 % пациентов – 107 человек;
- уменьшения вестибулоатактических нарушений у 43,7 % пациентов - 66 человек;
- улучшения когнитивных функций у 15,2% пациентов - 23 человека;
- уменьшения расстройств чувствительности парализованных конечностей – 45,7% - 69 человек;
- сочетания улучшения состояния в нескольких сферах – 80,8% - 122 человека.

У 12 пациентов (7,9%) – динамики не наблюдалось. По нашим наблюдениям это связано с изначально сниженными интеллектуально - мнестическими функциями, со снижением способности к обучаемости.

Кроме клинических и функциональных методов исследования, использовалось тестирование пациентов по неврологическим шкалам. Функциональные шкалы включают измерения инвалидизации или зависимости в повседневной жизненной активности и измерение функциональной независимости. Эти шкалы позволяют объективизировать динамику симптомов и функциональных нарушений, оценить эффективность реабилитационных

мероприятий. По шкале Бартела, среднее количество баллов пациентов, наблюдавшихся в течение 3-х лет составили 87 б. У пациентов, проходящих лечение 2 года, – 63 б. У пациентов после первого года лечения - 38б. Исходный средний уровень баллов по шкале Бартела у наших пациентов – 18б. По шкале Рэнкина, пациенты после 3-х лет наблюдения, 20% - перешли с 3 ст. на 2 ст., после 2-х лет наблюдения 16%, после 1-года наблюдения 9%.

Оценка состояния микроциркуляции по окончании курсов лечения показала, что сохраняющиеся нарушения не сопряжены в количественном выражении с рутинными способами оценки статуса.

Так, улучшение микроциркуляции в паретичных конечностях по данным электромиографии (в виде нарастания М-волны) - улучшение нервно-рефлекторной проводимости мышц паретичных конечностей отмечено у 107 (70,9%) пациентов.

По данным инфракрасной плетизмографии улучшение отмечено в 113 случаях (74,8%).

По данным лазерной доплеровской флоуметрии, положительная динамика отмечена у 91 человека, что составило 60,3 % наблюдений.

По данным тепловизионного исследования улучшение динамики состояния кровотока в паретичных конечностях было лишь у 56,3% пациентов (85 человек).

Отметим отдельно, что с помощью ИК термографии высокого разрешения поздние нарушения микроциркуляции в паретичных конечностях выявлены у всех 151 больных, т.е. в 100% случаев.

Таким образом, впервые разработаны новые подходы к объективизации нарушений микроциркуляции после перенесённого острого нарушения мозгового кровообращения с использованием универсального диагностического комплекса. Выполнена сравнительная оценка информативности используемых исследовательских инструментальных протоколов (инфракрасная плетизмография, лазерная доплеровская флоуметрия, исследование нервно-мышечной проводимости, дистантная термография) в отношении выявления нарушений микроциркуляции в конечностях после ОНМК.

Применение разработанных методических подходов при ведении больных, перенесших инсульт, в период реабилитации позволит оптимизировать восстановительные мероприятия и построить программу реабилитации с учётом выявляемых нарушений микроциркуляции, что в конечном итоге улучшит отдаленные результаты лечения у пациентов, перенесших ОНМК.

5.2. Анализ эффективности реабилитационных мероприятий пациентов после перенесённого ишемического инсульта с учётом выявляемых микроциркуляторных нарушений путём применения разработанной программы диагностического поиска

В комплексные программы по лечению и реабилитации пациентов были включены:

- лекарственная терапия, направленная в основном на профилактику повторных нарушений мозгового кровообращения: антигипертензивные препараты, препараты для улучшения реологических свойств крови, гипогликемические препараты, препараты для снижения и стабилизации уровня холестерина, препараты, улучшающие мозговое кровообращение, ноотропные препараты, в редких случаях миорелаксанты при выраженной спастичности, психотропные препараты, противосудорожные препараты, а также препараты других групп при наличии показаний.

- лечебная физкультура, включающая в себя пассивные и активные движения в конечностях. Пассивные движения применяются при отсутствии активных движений, включают в себя лечение положением. Для выполнения пассивных движений необходимы их полная изолированность, четкость траектории, полная амплитуда, медленный темп, плавность и безболезненность, движения выполняются как больной, так и здоровой рукой. Активные движения представляют комплекс лечебной физкультуры, подобранный индивидуально на основании «Руководства по восстановлению двигательных функций после перенесенного инсульта» Сара Тайсон, Энн Эшбурн, Джаколин Джексон, 2001г.

- специальный дифференцированный массаж с использованием точечных техник и остеопатической коррекции по показаниям. Противопоказания такие же, как и к обычному массажу.

- иглорефлексотерапия. Иглотерапия основана на лечебном воздействии на строго локализованные, биологически активные точки (БАТ), расположенные в коже и слизистых оболочках тела. Воздействие происходит с помощью игл. Иглотерапия оказывает регулирующее влияние на функциональное состояние центральной нервной системы, повышает возбудимость нервных центров, улучшает проведение нервных импульсов. Общее число БАТ - 695, часто используются около 100. Используется при наличии болевого синдрома. При повышенном тоне и стимуляции движения используется тормозной метод. При наличии вялых парезов используется возбуждающий метод.

- фармакореплексопунктура, как один из методов рефлексотерапии. Проводится введение препаратов в биологически активные точки, как правило, точки общего действия и точки на парализованных конечностях.

- электростимуляция мышц с использованием аппарата «ЭСМА». Электростимуляция регулирует активность центральной нервной системы (головного и спинного мозга), восстанавливает активность нервно-мышечного аппарата, восстанавливает тонус мышц и объем мышечной массы, увеличивает сосудистое русло артериальной и венозной крови, питающее нервы и мышцы, а также обладает обезболивающим эффектом. Использовали при центральных (спастических) парезах и параличах (ограничение активных движений), гипотрофия мышц (похудание) вследствие длительной гиподинамии в режиме пассивной стимуляции и в режиме ходьбы.

- методика электромиографического биологического управления с обратной связью способствует формированию правильных биомеханических отношений в пораженных мышцах, улучшению сократительной способности мышц антагонистов. Формирование новых двигательных актов сопровождается перестройкой биоритмологической активности головного мозга: усиливается или создается альфаритм, уменьшается тета-ритм.

- тренинг на стабиллоплатформе для восстановления функции удержания равновесия в вертикальном положении.

- психотерапевтическая коррекция.

В таблицах 31 и 32 приведены методы немедикаментозного лечения и группы применяемых лекарственных препаратов, а также количество получавших данные виды лечения пациентов в обеих группах исследования.

Таблица 31 - Немедикаментозные методы, использованные в комплексных программах лечения и реабилитации, и количество получавших терапию больных

Немедикаментозная терапия				
Метод	Группа 1	%	Группа 2	%
Электростимуляция	108	32,0*	62	15,2*
Физиотерапия	100	29,7	140	34,2
Массаж	322	98,5	388	94,9
ЛФК	243	72,1	272	66,5
Стабиллоплатформа	55	16,3*	171	41,8*

* - статистически значимые различия между группами 1 и 2, $p < 0,05$.

По данным статистического анализа, электростимуляция достоверно чаще использована в группе 1, $p = 0,0046$, тогда как тренировки на стабиллоплатформе достоверно чаще проводились у пациентов группы 2. Распределение физиотерапии, массажа и ЛФК между группами не отличается.

Таблица 32 - Применяемые схемы консервативного лечения пациентов с ишемическим инсультом (к стандарту было добавлено не более 1 препарата)

Схема лечения	Группа 1	%	Группа 2	%
Стандарт	76	22,6	77	18,8
+препараты аспирина	103	30,6	110	26,9
+варфарин	7	2,1*	59	14,4*
+бета-адреноблокаторы	0	0	3	0,7
+ингибиторы АПФ	0	0	3	0,7
+метформин	6	1,8	12	2,9

+глибенкламид	3	0,9	0	0
+янувия	7	2,1	1	0,2
+фраксипарин	11	3,3	11	2,7
+инсулин	46	13,6	34	8,3
+прадакса	0	0	4	1,0
+клопидогрель	37	11,0	24	5,9
+ангиовит	0	0	14	3,4
+вессел дуэ ф	0	0	10	2,4
+кордарон	4	1,2	0	0
+крестор	0	0	3	0,7
+пкмерц	5	1,5	0	0
+ингибиторы АХЭ	3	0,9	0	0
+клоназепам	0	0	11	2,7
+акатинол	10	3,0	0	0
+проноран	8	2,4	13	3,2
+мирапекс	0	0	6	1,5
+мадопар	6	1,8	0	0
+наком	0	0	3	0,7
+сталево	0	0	8	1,9

* - статистически значимые различия между группами 1 и 2, $p < 0,05$.

По данным статистического анализа, распределение пациентов по признаку дополнительного медикаментозного лечения не различается в обеих группах, $p > 0,4$. В группе 2 имеет место достоверно более частое применение варфарина – почти в 7 раз чаще ($p = 0,0018$), число пациентов, пролеченных с использованием других препаратов, значимо не различается.

Результаты. С использованием данной программы, сочетающей медикаментозное лечение и немедикаментозные методы, было обследовано и пролечено 166 больных. Из них 69 женщин (41,6%) и 97 мужчин (58,4%). Средний возраст 63,6 лет. Сроки давности инсультов от 1 месяца до 5 лет. С помощью дистантной термографии высокого разрешения выявлены поздние нарушения микроциркуляции в паретичных конечностях у всех больных, т.е. в 100% случаев.

Были выделены наиболее типичные изменения терморельефа кожных покровов паретичных конечностей. Наблюдаемые изменения можно разделить на:

- умеренные - термоасимметрия в исследуемых конечностях «здоровая - паретичная» менее 1 градуса по Цельсию (рисунок 11).

- выраженные - термоасимметрия в исследуемых конечностях «здоровая - паретичная» более 1 градуса по Цельсию (рисунок 12).

- по распространённости можно выделить распространённые (рисунки 11,12) и локальные изменения термоасимметрии (рисунок 13).

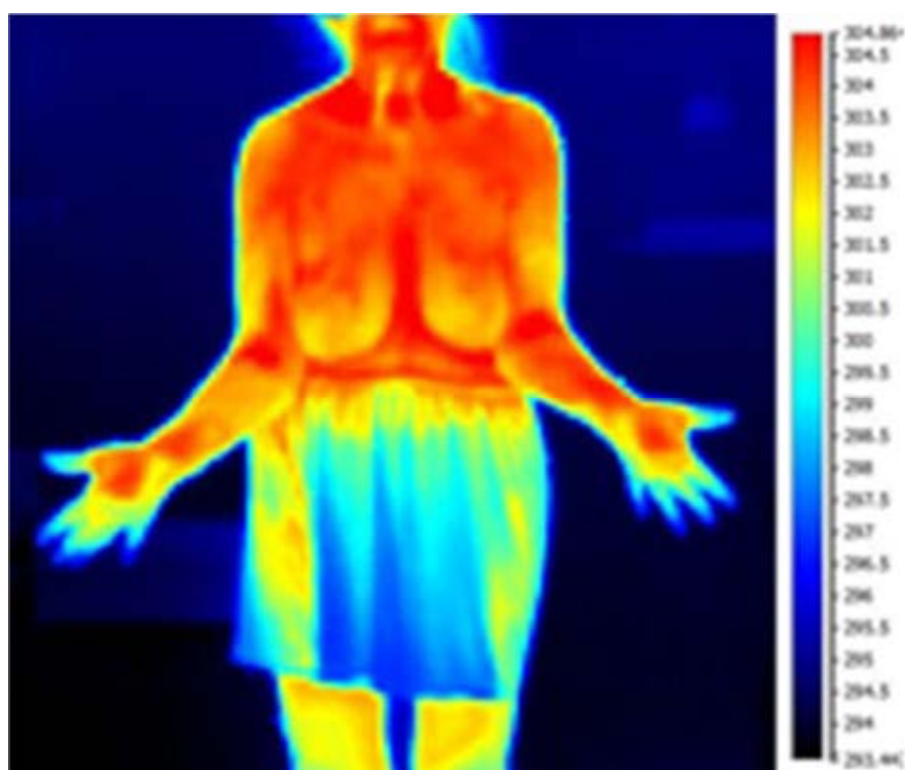


Рисунок 11 - Умеренное снижение температуры дистальных отделов правой паретичной конечности

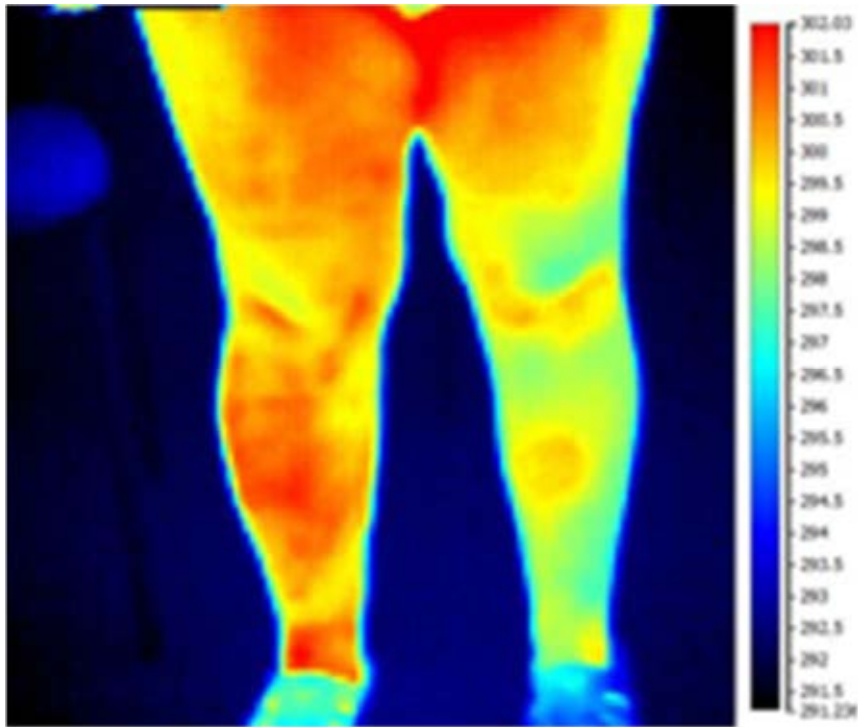


Рисунок 12 - Выраженное снижение температуры дистальных отделов левой паретичной конечности

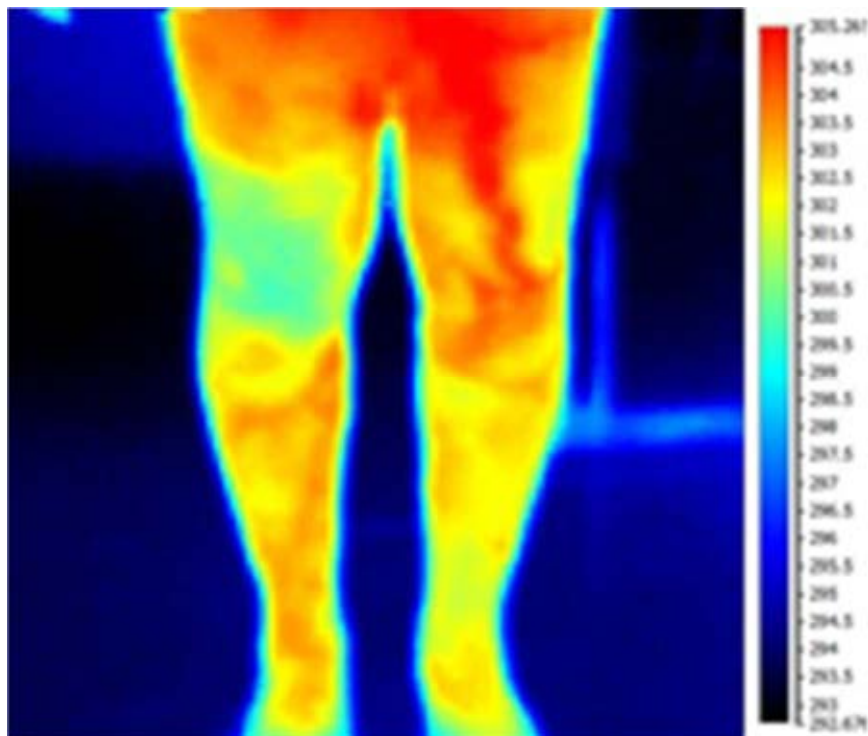


Рисунок 13 - Локальное снижение температуры проксимального отдела правой паретичной конечности

При помощи термографии выявлены расстройства микроциркуляции в паретичных конечностях в различные сроки у больных после перенесённого

ОНМК, регистрируемые в виде асимметрии терморельефа кожных покровов и различной степени выраженности снижения кожной температуры. Выявляемые нарушения теплообмена свидетельствуют о наличии стойких расстройств микроциркуляции (при давности ОНМК до 5 лет) в регионе паретичных конечностей, что приводит к низкой эффективности реабилитационных мероприятий. Принимая во внимание характер и распространённость нарушений микроциркуляции, был индивидуализирован подход при разработке программы реабилитации, способствуя тем самым улучшению результатов лечения.

После проведения лечения с использованием персонализированного алгоритма, группы пациентов были обследованы на универсальном диагностическом комплексе для объективизации изменений микроциркуляторного русла. Число пациентов с выявленной положительной динамикой по данным различных методов обследования представлено в таблице 33.

Таблица 33 - Частота выявленной положительной динамики в микроциркуляторном русле при различных подходах в лечении и реабилитации ишемического инсульта

Инструментальные методы диагностики нарушений микроциркуляции	Персонализированный подход	Стандарт лечения и реабилитации
Электромиография	70,9%*	58,5 %*
Инфракрасная плетизмография	74,8%*	62,4%*
Лазерная доплеровская флоуметрия	60,3 %	51,3%
Тепловизионное исследование	56,3%*	36,3%*

* - различия статистически достоверны, $p < 0,05$.

При использовании всех четырех методов обследования выявлено большее число пациентов с улучшением после персонализированного лечения по

сравнению со стандартной схемой. По данным электромиографии, инфракрасной плетизмографии и термографии, увеличение количества пациентов с положительной динамикой статистически достоверно, $p < 0,05$. Различия по данным лазерной доплеровской флоуметрии статистически недостоверны, что можно объяснить особенностями регистрации показателей (только дистальная фаланга одного пальца).

Оценивая результаты применения прибора ТКВр-ИФП «СВИТ» (ИФПП СО РАН), были сделаны выводы:

- Во время эксплуатации прибора отметили высокую надёжность, простоту использования, мобильность, удобные условия транспортировки, полипозиционность тепловизора при проведении исследований у различных групп пациентов (в том числе при ограничении движений пациента), короткий срок подготовки к исследованиям, быстрое действие прибора. Кроме того, прибор обладает простым и удобным интерфейсом, совместимостью операционной системы с используемым программным обеспечением, отражает основные требуемые параметры, получаемую информацию удобно архивировать.

- Дистантная термография обладает очень высокой информативностью исследования, высокой точностью измерений, возможностью получения новых данных в режиме реального времени. Обращает на себя внимание высокое пространственное и температурное разрешение, осуществимое только на приборах последнего поколения, удобство получения заключения и передачи медицинской информации с целью дальнейшей обработки и статистического учёта.

Таким образом, разработана методика дистантного исследования терморельефа кожных покровов конечностей у пациентов, перенесших ОНМК. Оценены возможности новой модификации представленного прибора и программного обеспечения (прибор ТКВр-ИФП «СВИТ» (ИФПП СО РАН). Метод ИК термографии высокого разрешения является высокоэффективным способом оценки состояния теплообмена (микроциркуляции) у больных, перенесших ОНМК, выявляемые изменения микроциркуляции могут быть

использованы для разработки индивидуальной программы реабилитации у данной категории больных. Разработанный протокол оценки терморельефа кожных покровов может быть использован в качестве методических рекомендаций по проведению обследования при создании программы по ведению больных, перенесших инсульт, в период реабилитации.

Заключение. Представлены результаты собственных исследований универсального диагностического комплекса в неврологической практике, его структура, технические и диагностические возможности, а также методология применения комплекса в клинической практике среди пациентов, перенесших ишемический инсульт. В рамках обсуждения методологии приведен анализ клинических данных пациентов в двух группах – с ухудшением в неврологическом статусе и с положительной динамикой.

При анализе данных по распределению факторов риска в двух группах выявлено, что в группе с ухудшением наблюдается достоверно более частая встречаемость сахарного диабета, в том числе, 1 типа, пациентов с таким диагнозом в группе 1 почти в 2 раза больше, что свидетельствует о значимом вкладе этого фактора в ухудшение прогноза исхода ишемического инсульта. Прочие клинические факторы риска не оказывают значимого влияния на исход ИИ в конечном итоге, однако, такой факт, как семейная наследственная предрасположенность к ОНМК, проявился как важный прогностический фактор. В группе с улучшением в неврологическом статусе количество пациентов с семейным анамнезом ИИ достоверно больше, Хи-квадрат = 5,83, $p = 0,016$, что позволяет говорить о значимом вкладе генетических факторов риска в прогноз исхода ишемического инсульта.

Проведен анализ собственных результатов применения персонализированного подхода в медикаментозном и немедикаментозном лечении и реабилитации пациентов после ОНМК. Результаты лечения в виде улучшения микроциркуляции в пораженных конечностях объективизированы с помощью универсального диагностического комплекса по разработанной методике. Выявлено, что при лечении согласно персонализированному алгоритму

улучшения в микроциркуляторном русле наблюдаются у достоверно большего числа пациентов. Улучшения подтверждены при обследовании по каждому компоненту диагностического комплекса.

Во время работы с универсальным диагностическим комплексом в неврологической практике отмечена простота применения, удобство, неинвазивность и отсутствие абсолютных противопоказаний. Составленные на основе результатов обследования персонализированные программы лечения и реабилитации значимо более эффективны, что подтверждено объективными методами. Разработанная методика и положительный опыт ее применения у пациентов, перенесших ОНМК, позволяют сделать вывод о перспективности и актуальности персонализированного подхода в лечении и реабилитации.

Глава 6

ОБСУЖДЕНИЕ. РЕАЛИЗАЦИЯ ПРИНЦИПОВ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ В ПРОФИЛАКТИКЕ, ДИАГНОСТИКЕ, И РЕАБИЛИТАЦИИ ПОСЛЕ ОНМК

Персонализированная медицина в диагностике ОНМК: универсальный диагностический комплекс

В настоящей работе впервые продемонстрированы результаты комплексного подхода к исследованию неврологического статуса в диагностике острых нарушений мозгового кровообращения по ишемическому типу. Важно отметить, что комплексная диагностика проведена с учетом патофизиологического подтипа ишемического инсульта.

В литературе существует множество методик, позволяющих качественно и количественно оценить изменения вегетативной нервной системы в различные периоды после перенесенного острого нарушения мозгового кровообращения. Одним из широко применимых является кардиоинтервалография [37], оценивающая изменения ВНС на уровне сердечной деятельности, пульсоксиметрия, плетизмография и другие – для оценки периферического микроциркуляторного потенциала в конечностях пораженной и контрлатеральной стороны. Уникальность использованного в работе диагностического комплекса в его универсальности – исследование состояния микроциркуляторного русла практически на любом участке тела, а также в его полифункциональности – одномоментном параллельном определении параметров показателей ВНС на каждом отдельно взятом участке тела. Известно, что ОНМК, в частности, по ишемическому типу, всегда обуславливает нарушения регуляции вегетативных функций на периферии – в пораженных конечностях, и в настоящей работе количественные критерии нарушения взяты за диагностическую основу.

Выявляемые при обследовании с помощью универсального диагностического комплекса особенности и нарушения регуляции ВНС являются

единственным уникальным способом объективизировать эффективность лечения (медикаментозного, ЛФК и прочих) в различных заинтересованных областях. За счет высокой чувствительности включенного в состав комплекса оборудования с его помощью возможно выявить даже минимальные изменения, которые нельзя определить традиционными методами. Оценка минимальных, начальных отклонений регуляции ВНС является фундаментальным патогенетическим обоснованием клинических проявлений микроциркуляторных нарушений в конечностях.

Изучение масштаба изменений вегетативной нервной системы до начала лечения, а также динамическая функциональная оценка его эффективности в настоящем исследовании являются обоснованием для распределения пациентов с ИИ в 3 группы в зависимости от степени исхода: положительная динамика, отрицательная динамика, отсутствие таковой. На основании объективизированных показателей ВНС проводилась коррекция лечебно-реабилитационных мероприятий с учетом индивидуальных особенностей и динамики изменений, выявленных при обследовании. Попытки и способы разработки персонализированных алгоритмов лечения, профилактики и реабилитации предложены в литературе [37], тем не менее, количественно обоснованный алгоритм подбора лечебной программы предложен впервые. Показано, что индивидуально подобранное лечение и реабилитация статистически более эффективно, чем стандартизированное, назначенное без патогенетического обоснования. Таким образом, универсальный диагностический комплекс является важным и высокоэффективным средством определения фундаментальных основ дисциркуляторных нарушений, объективизирует клинические и функциональные изменения ВНС после перенесенного ИИ и определяет персонализированный алгоритм в лечении и реабилитации пациентов.

Персонализированная медицина в диагностике ОНМК: молекулярно-генетические методы

Индивидуальная оценка комплекса факторов риска важна в диагностике и лечении практически любого заболевания. Особенно актуально это для острых нарушений мозгового кровообращения как мультифакторных социально значимых заболеваний. Персонализированные подходы могут быть применены на каждом этапе – диагностики, лечения, профилактики, и активное внедрение таких подходов в широкую практику способно существенно изменить взгляды современной медицины на ОНМК.

Диагностические алгоритмы, включающие скрининг на наличие конституциональных молекулярно-генетических факторов риска ишемического инсульта, в последние годы активно разрабатываются как за рубежом, так и отечественными исследователями [59, 129, 145].

В настоящей работе исследованы 6SNPs – полиморфных вариантов генов, детерминирующих функции ферментов системы перекисного окисления липидов, в качестве возможных предикторов развития ишемического инсульта и его осложненного течения. Несмотря на то, что для изучения были выбраны патофизиологически обоснованные полиморфизмы, описанные в литературе как статистически значимые молекулярно-генетические факторы риска развития различных подтипов ишемического инсульта, оказалось, что 5 из 6 потенциальных факторов не вносят значимого вклада в риск развития ишемического инсульта в популяции Западно-Сибирского региона. Согласно данным литературы, для абсолютного большинства генов-кандидатов при изучении степени риска выявлен разнонаправленный вклад в вероятность развития ишемического инсульта, в прогноз заболевания и перспективы реабилитации. В частности, в 2014 году были опубликованы данные [168] о том, что носительство аллельных вариантов гена BDNF и обусловленных ими изменение функций фермента не имеет вклада в риск развития ИИ, однако, вероятно, отрицательно сказывается на прогнозе. Рассмотрение иных аллельных вариантов генов перекисного окисления липидов, описанных в работе, также может выявить особенности локальных популяций в отношении риска развития ишемического инсульта [59].

В изученной популяции Западно-Сибирского региона выявлены этногенетические конституциональные особенности распределения факторов высокого риска развития ишемического инсульта. По результатам исследования определен единственный полиморфизм гена гипоксия-индуцированного фактора HIF1a C1772T, имеющий статистически значимое влияние на увеличение риска развития ОНМК по ишемическому типу. При условии принадлежности пациентов к популяции Западно-Сибирского региона, молекулярно-генетическое исследование носительства аллельных вариантов гена HIF1a рекомендовано для рутинного скринингового обследования пациентов при выявлении факторов риска ишемического инсульта. В настоящее время в молекулярно-генетическом тестировании основной акцент ставится на полиморфизмах, определяющих изменения в системе гемостаза [39, 69, 114], тем не менее, их патогенетическое обоснование определено непосредственно тромбогенезом, который не всегда имеет место. Конституциональные предикторы, связанные с изменениями в системе перекисного окисления липидов, являются наиболее интегральными, отражающими местные и системные изменения про- и антиоксидантных реакций, которые, в свою очередь, определяют возможности восстановления и прогноз [42]. Поэтому, предложенный в качестве инструмента скрининга полиморфизм HIF1a рекомендовано применять для диагностики вне зависимости от патогенетического подтипа ишемического инсульта.

Несмотря на большое число выявленных и описанных молекулярно-генетических предикторов ОНМК, с учетом патофизиологических и этногенетических особенностей, интегральных факторов риска, применимых в качестве скрининга для мировой практики, сегодня не существует. Текущая ситуация оставляет для исследователей намного больше вопросов, чем ответов, и делает попытки поиска конституциональных факторов риска актуальными снова и снова [75, 129]. В связи с этим, наибольшего внимания заслуживают исследования, ориентированные на учет этно-генетических особенностей популяции и других конституциональных характеристик [12, 41]. С другой стороны, весомую диагностическую ценность потенциально имеет определение

молекулярно-генетических факторов риска ишемического инсульта в зависимости от патофизиологического подтипа [129], однако на практике подобные исследования затруднительны вследствие значительных сложностей в диагностике собственно подтипа ИИ, а также сочетанной этиологии. Исходя из этого, наиболее востребованы поиски интегральных, общих для нескольких подтипов ИИ диагностических маркеров, пригодных для скрининговых исследований по выявлению высокого риска развития ИИ в рутинной практике.

Заключение: описанные персонализированные подходы к диагностике, лечению и реабилитации пациентов с острыми нарушениями мозгового кровообращения могут быть использованы в качестве пилотных проектов при внедрении современных концепций в систему здравоохранения. Широкое применение современных персонализированных подходов в неврологии, реабилитологии является предвестником сдвига существующей ситуации в эпидемиологии и терапии ишемических инсультов. Распространение в клинической практике рутинных молекулярно-генетических тестов для изучения конституциональных факторов риска является важным компонентом персонализированной диагностики, в том числе, семейной, и значительно повысит диагностическую ценность скрининговых исследований в группах риска по ОНМК. Благодаря повышению эффективности лечения, своевременной предиктивной диагностике, существует реальная возможность сместить острые нарушения мозгового кровообращения с лидирующих причин инвалидизации и смертности в Российской Федерации.

ВЫВОДЫ

1. Создана База данных пациентов Западно-Сибирского региона, перенесших ишемический инсульт, в количестве 746 пациентов, а также база данных в объеме 1200 образцов ДНК пациентов с ишемическим ОНМК и 500 ДНК лиц без сосудистых заболеваний.

2. Результаты молекулярно-генетического исследования, проведенного в группе пациентов, перенесших ишемический инсульт, и у относительно здоровых жителей Западно-Сибирского региона показали, что у носителей полиморфного аллеля Т гена HIF1a C1772T имеется достоверное повышение риска возникновения ишемического инсульта. При изучении распространенности в популяции Западно-Сибирского региона полиморфизмов генов ApoE, MnSOD, GPX, BDNF, p22rhox показано отсутствие статистически достоверной корреляции с высоким риском развития ОНМК.

3. Разработана структура универсального диагностического комплекса, методология его применения у пациентов, перенесших ОНМК, а также методология рутинного тепловизионного обследования. Данные функциональные методики являются неинвазивными, безопасными, и открывают новые перспективы в количественной диагностике нарушений микроциркуляции конечностей, в частности, после инсульта. Методики удобны, просты в применении, и могут быть рекомендованы для рутинного применения в комплексе диагностики и реабилитации.

4. Изучены особенности микроциркуляции в конечностях у пациентов, перенесших ишемический инсульт, в остром и раннем реабилитационном периодах, выявлены характерные нарушения микроциркуляции (очаговые, диффузные, тотальные) в поражённых конечностях в остром и раннем реабилитационном периодах после перенесённого ишемического инсульта. Данные инструментального осмотра использованы в качестве дополнительных критериев эффективности проводимой реабилитации в раннем реабилитационном периоде.

5. Результаты лечения ОНМК в виде улучшения микроциркуляции в пораженных конечностях объективизированы с помощью универсального диагностического комплекса по разработанной методике. Выявлено, что при лечении согласно персонализированному алгоритму улучшения в микроциркуляторном русле наблюдаются у достоверно большего числа пациентов. Улучшения подтверждены при обследовании по каждому компоненту диагностического комплекса.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Наличие в генотипе редкого аллельного варианта HIF1a предполагает высокий риск развития ишемического инсульта, особенно при участии модифицирующих факторов риска, поэтому очевидно, что для этой категории пациентов необходимо проведение полноценных профилактических мероприятий. Кроме того, крайне важно выявление носителей молекулярно-генетических предикторов среди родственников пациента, формирование групп риска и дальнейшее наблюдение, семейное консультирование.

2. Принципиальными подходами при составлении программы профилактики ИИ и программ лечения и реабилитации после свершившихся ОНМК является учёт генетически детерминированных реакций при течении окислительного стресса в организме человека, состоянии системы гемостаза, реактивности сосудов.

3. Комплексное объективизированное обследование состояния микроциркуляторного русла на универсальном диагностическом комплексе в неврологической практике обеспечивает простоту применения, удобство, неинвазивность и отсутствие абсолютных противопоказаний. Составленные на основе результатов обследования персонализированные программы лечения и реабилитации значимо более эффективны, что подтверждено объективными методами.

4. Принципиально важным является комплексный подход к оценке состояния пациента после ИИ с учётом всех диагностически значимых изменений в микроциркуляторном русле конечностей. Выявляемые изменения должны быть учтены при составлении комплексных программ реабилитации после ОНМК.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АГ – артериальная гипертония

АПФ – ангиотензинпревращающий фермент

АСК – ацетилсалициловая кислота

АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время

ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения

ИИ – ишемический инсульт

ИПГ – инфракрасная плетизмография

КТ – компьютерная томография

ЛДФ – лазерная доплеровская флоуметрия

МНО – международное нормализованное отношение

МРТ – магнитно-резонансная томография

ТВИ – тепловизионное исследование

ФП – фибрилляция предсердий

ЭКГ – электрокардиография

ЭНМГ – электронейромиография

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алфимова, Г.Ю. Регистр инсульта в Смоленской области. Материалы 5-й Межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы неврологии»/ Маслова Н.Н. // Бюллетень сибирской медицины. – 2008.–№ 5. – С. 19-23.
2. Белеванцева, А.В. Предиктивная медицина социально значимых заболеваний: организационные, юридические, экономические и морально-этические аспекты./ Лифшиц Г.И., Суховеева О.А. // Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина. – 2008. – Т. 6, №2. – С. 6-12.
3. Белкин, А.А. Современные аспекты эпидемиологии, патофизиологии, этиологии и классификации инсульта./ Волкова Л.И. // Медицинская наука и практика. – 2005. – №1.– С. 2-10.
4. Белова, А.Н. Нейрореабилитация. Руководство для врачей. М., 2000. С. 736
5. Биденко, М.А. Структура, исходы и факторы риска мозговых инсультов по данным госпитального регистра в г. Иркутске. / Шпрах В.В., Мартыненко Е.А. // Сибирский медицинский журнал. – 2008.– №4.– С. 61-64.
6. Богданов, А.Н. Эпидемиология и факторы риска хронических цереброваскулярных заболеваний и ишемического инсульта в климатических условиях севера Западной Сибири./ Карпин В.А. //Экология человека. 2015. -№8.- С. 53-57.
7. Борисов, В.А., Маркин С.П. Восстановительное лечение больных в санаторно-курортных условиях. Воронеж, 2007. Воронежская гос. мед. акад. Воронеж. С.- 235.
8. Василевская, О.В. Причины неэффективности вторичной профилактики ишемического инсульта. / Сафина Д.Д., Силантьева И.В. // Казанский медицинский журнал. – 2012. –Т. 93, №5. – С. 744-748.
9. Верещагин, Н.В. Регистры инсульта в России: результаты и методологические аспекты проблемы./ Варакин Ю.Я. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова Прил. «Инсульт». – 2001. -№1. – С. 34-40.

10. Виноградова, Т.Е. Эпидемиология и хирургическая профилактика ишемического инсульта в крупных городах Сибири и Дальнего востока./ Чернявский А.М., Виноградов С.П., Караськов А.М. // Бюллетень СО РАМН. – 2006. –Т. 120, №2. – С. 139-146.
11. Гончар, И.А. Прогрессирующий ишемический инсульт: функциональный исход и выживаемость./ Прудывус И.С., Недзьведь Г.К. // Медицинские новости. 2015.- № 2 (245).- С. 68-71.
12. Громыко, О.Е. Анализ полиморфизмов генов гемостаза и фибринолиза у детей с ишемическим инсультом./ Арсеньева Е.Н., Нечаева Н.Л., Глоба О.В., Кузенкова Л.М., Асанов А.Ю., Пинелис В.Г. // Российский педиатрический журнал. 2014.- №17.- С. 4-9.
13. Гусев, Е.И. Проблема инсульта в России // Журнал неврологии и психиатрии. Приложение «Инсульт». – 2003. – №. 9. – С. 3–10.
14. Гусев, Е.И. Терапия ишемического инсульта./ Скворцова В.И., Платонова И.А.// Consilium Medicum. – 2003. – Т. 5, №8. – С. 466-473.
15. Гусев, Е.И. Проблема инсульта в Российской Федерации: время активных совместных действий. / Скворцова В.И., Стаховская Л.В. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2008. – №8. – С. 4-10.
16. Гусев, Е.И. Эпидемиология инсульта в России./ Скворцова В.И., Стаховская Л.В., Киликовский В.В., Айриян Н.Ю.// Consilium Medicum. Спец. вып. Неврология. – 2003. – С. 5-7.
17. Дамулин, И.В. Нарушения кровообращения в головном и спинном мозге./ Парфенов В.А., Скоромец А.А. //В кн.: Болезни нервной системы. Руководство для врачей. Под ред. Н.Н. Яхно. М.: Медицина, 2005. – 232-303.
18. Евзельман, М.А. Нарушение углеводного обмена у больных мозговым инсультом./ Макеева М.А., Сентибрагимова М.В. // Ученые записки. – 2008. - №5. –С. 74-76.

19. Ефимова, О.С. Эпидемиология инсультов: ведущие факторы риска и направления профилактики./ Слободенюк А.В., Белкин А.А., Пинчук Е.А. // Гигиена и эпидемиология. – 2008.- Т. 48, №8. – С. 43-46.
20. Захарова, Е.М. Современные представления о цереброваскулярных заболеваниях // Медицинский альманах. – 2010. –Т. 11, №2. – С. 42-47.
21. Зингашина, Л.Е. Церебролизин в лечении острого ишемического инсульта./ Абакумова Т.Р. // Вестник РАМН. – 2013. – №1. – С. 21-29.
22. Зыков, В.П. Ишемический инсульт в детском возрасте./ Васильев С.А., Комарова И.Б., Чучин М.Ю., Ушакова Л.В., Швабрина Т.В., Степанищев И.Л., Черкасов В.Г. // Лечебное дело. – 2012.– №2. – С. 12-20.
23. Инсульт: диагностика, лечение и профилактика. Под ред. З.А. Суслиной, М.А. Пирадова. М.: МЕДпресс-информ, 2008.- 288 с.
24. Кадыков, А.С. Черникова Л.А., Шахпаронова Н.В. Реабилитация неврологических больных. М.: МЕДпресс-информ, 2014. -560 с.
25. Кадыков, А.С. Вторичная профилактика инсульта. / Шахпаронова Н.В. // Consilium Medicum. – 2007. – Т. 9, №11.- С.58-61.
26. Калинин, П.П. Тревожно-депрессивные расстройства в восстановительном периоде ишемического инсульта. / Назаров В.В., Улитина М.Н.// Consilium Medicum. Спец. Вып. Неврология. – 2010. – №2. –
27. Карпова, Е.Н. Эпидемиология и факторы риска развития ишемического инсульта. / Муравьев К.А., Муравьева В.Н., Карпов С.М., Шевченко П.П., Вышлова И.А., Долгова И.Н., Хатуаева А.А. // Современные проблемы науки и образования. 2015. -№4. -С. 441.
28. Кнауэр, Н.Ю. Молекулярно-генетический подход к оптимизации современной антиагрегантной терапии. / Лифшиц Г.И. // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – Т. 84, №2 (часть 1). – С. 143-152.
29. Коваленко, А.В. Эпидемиология и факторы риска инсульта в Кемерово./ Гилева О.А. // Бюллетень сибирской медицины. – 2008.–№5. – С. 170-175.
30. Ковтун, О.П. Ишемический инсульт в молодом возрасте иу детей: особенности факторов риска и этиологии. / Львова О.А., Гусев В.В.,

- Чарушникова А.А., Межирицкая М.С. // Нейрохирургия и неврология детского возраста. –2011.– №4.– С. 32-38.
31. Кох, Н.В. Вклад генетических маркеров в изменение терапевтической дозировки варфарина / Цветовская Г.А., Новикова Я.В., Воронина Е.Н., Филипенко М.Л., Лифшиц Г.И. // Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина. – 2011. – Т. 9, №4. – С. 148-154.
32. Кравцова, Е.Ю. Окислительная модификация белков как биохимический маркер прогноза ишемического инсульта. / Соснин Д.Ю., Мартынова Г.А. // Медицинский альманах. – 2012. – Т. 21, №2. – С. 95-97.
33. Крыжановский, С.М. Повторный ишемический инсульт: особенности тактики ведения пациентов. / Можаровская М.А.// ConsiliumMedicum (Прил. Практическая неврология). – 2012. – Т. 14., №9. – С.44-47.
34. Маркин, С.П. Восстановительное лечение больных, перенесших инсульт. М., 2009. Журнал неврологии и психиатрии. Инсульт, 2010. -N 12. - С.41-45.
35. Мартынов, М.Ю. Окислительный стресс у больных с мозговым инсультом. / Ясаманова А.Н., Колесникова Т.И., Щукин И.А., Чубыкин В.И., Глухарева А.П., Авдеев С.А. // ConsiliumMedicum Неврология. – 2010. – №2. С. 14-17.
36. Мирютова, Н.Ф. Комплексная реабилитация больных с последствиями острого нарушения мозгового кровообращения. / Самойлова И.М., Барабаш Л.В., Зайцев А.А., Абдулкина Н.Г., Гусева В.И.// Физиотерапия, бальнеология и реабилитация. 2015. -Т.14, №1.-С. 13-18.
37. Никитин, Ю.П. Гипергомоцистеинемия в мужской популяции Новосибирска. / Мотина О.В., Рагино Ю.И., Симонова Г.И., Полонская Я.В., Иванова М.В., Щербакова Л.В., Малютина С.К.// Российский кардиологический журнал. – 2007.– Т. 66, №4. – С. 63-68.
38. Никулин, Д.А. Роль гена Ros1 в развитии острого нарушения мозгового кровообращения./ Никулина С.Ю., Чернова А.А., Шульман В.А., Третьякова С.С // Российский кардиологический журнал. 2015. №10. С. 46-49.

39. Новикова, Я.В. Длительная терапия непрямыми антикоагулянтами. Современное решение проблемы./ Морозов В.В., Шевела А.И., Серяпина Ю.В. // Флебология. – 2012. – Т.6, №3. – С.40-45.
40. Овсянникова, А.Н. Анализ полиморфизма генов системы гемостаза в развитии острой ишемии мозга у пациентов молодого и среднего возраста./ Машин В.В., Белова Л.А., Саенко Ю.В., Васицкий Н.Р., Абрамова В.В. // Современные проблемы науки и образования. 2014. -№5. -С. 511.
41. Орлова, А.С. Особенности свободнорадикальных процессов у коморбидных больных с острым инсультом и транзиторной ишемической атакой. /Силина Е.В., Румянцева С.А., Ступин В.А., Меньшова Н.И., Орлов В.А., Синельникова Т.Г., Болевич С.Б. // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2014.- №S2. -С. 34-41.
42. Пленум Проблемной комиссии «Заболевания центральной нервной системы». – 2008. – Т. 2, №2.– С. 59-61.
43. Савина, М.А. Клиника постинсультных депрессий // ConsiliumMedicum. Псих.расстройства в общей медицине. – 2006. – Т.1, №2. – С. 31-35.
44. Сайгитов, Р.Т. Нарушение мозгового кровообращения у мужчин и женщин: общее и особенности. / Глезер М.Г. // Проблемы женского здоровья. – 2011. – Т. 6, №1. – С. 47-58.
45. Сергеева, Н.В. Анализ первичной инвалидности при цереброваскулярной патологии в Иркутской области за 2004-2008 гг. /Шпрах В.В., Савков В.С. // Сибирский медицинский журнал. – 2010. – №6.– С. 165-168.
46. Скворцова ,В.И., Оксидантный стресс и кислородный статус при ишемическом инсульте./ Стаховская Л.В., Нарциссов Я.Р. и др.// Журнал неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова. – 2007. – Т. 107, №1. – С. 30-37.
47. Скворцова, В.И. Медицинская и социальная значимость проблемы инсульта // Качество жизни. Медицина. – 2004. – Т. 7, № 4. – С. 2–6.
48. Скворцова, В.И. Реперфузионная терапия ишемического инсульта // ConsiliumMedicum. – 2004. – Т. 6, №8. – С. 610-614.

49. Скворцова В.И. Снижение заболеваемости, смертности и инвалидности от инсультов в Российской Федерации. Сборник методических рекомендаций, программ, алгоритмов. М: «Литера», 2007. – С. 192.
50. Скворцова, В.И. Ишемический инсульт / В.И. Скворцова, М.А. Евзельман и др. Орел, 2006. – С. 401.
51. Скворцова В.И., Стаховская Л.В., Пряникова Н.А., Мешкова К.С. Вторичная профилактика инсульта: взгляд невролога // Болезни сердца и сосудов. – 2006. – Т. 1, №3. – С. 17-20.
52. Смертность населения Российской Федерации, 1998 г. (статистические материалы). М: Минздрав РФ 2006; - С. 36.
53. Смирнова И.Н., Федорова Т.Н., Танащян М.М., Суслина З.А. Клиническая эффективность и антиоксидантная активность Мексидола при хронических цереброваскулярных заболеваниях // Нервные болезни. Клин. фармакология. – 2006. – №1. (Прил. 1). – С -33.
54. Спирин, Н.Н. Данные госпитального регистра инсульта в Костроме. / Корнева Н.Н. // Фундаментальные исследования. – 2012. – №4. – С. 123-128.
55. Стародубцева, О.С. Анализ заболеваемости инсультом с использованием информационных технологий./ Бегичева С.В. // Фундаментальные исследования. – 2012. – №8. – С. 424-427.
56. Стаховская, Л. В. Эпидемиология инсульта в России по результатам территориально-популяционного регистра (2009-2010)./ Ключихина О. А., Богатырева М. Д., Коваленко В. В. // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2013. - №5. – С.4-10.
57. Стаховская, Л.В. Дифференцированная вторичная профилактика инсульта: дополнение к рекомендациям./ Мешкова К.С., Шеховцова К.В., Скворцова В.И. // ConsiliumMedicum (Прил. Неврология). – 2009. –№1. – С. 16-18.
58. Страмбовская, Н.Н. Прогностическая роль полиморфных вариантов генов-кандидатов у больных ишемическим инсультом в Забайкалье // Фундаментальные исследования. 2015. -№1-1.- С. 140-144.

59. Суслина, З.А. Эпидемиологические аспекты изучения инсульта. Время подводить итоги./ Варакин Ю.Я. // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. – 2007. – Т.1, №2. – С. 22-28.
60. Суслина, З.А. Сосудистые заболевания головного мозга. /Варакин Ю.Я., Верещагин Н.В. МЕДпресс-информ, 2009. – С. 256.
61. Титов, Б.В. Ишемический инсульт как комплексное полигенное заболевание. / Матвеева Н.А., Мартынов М.Ю., Фаворова О.О. // Молекулярная биология. 2015.- Т. 49, №1. -С. 224.
62. Тутельян, В.А. Принципы алиментарной профилактики инсульта /Батурин А.К., Погожева А.В.//Consilium Medicum. Спец. вып. Неврология. – 2011. – №1. – С.72.
63. Урманчеева, Л.Ф. Реабилитация больных ишемическим инсультом в Читинской области. / Ширшов Ю.А. // Забайкальский медицинский вестник. – 2006. – №2. – С. 7-11.
64. Федин, А.И. Профилактика инсульта // Неврологический вестник. – 2005.– Т. XXXVII, №1-2.– С.93-104.
65. Фейгин, В. Инсульт: /Виберс Д., Браун Р. //Клиническое руководство. М.: Бином; СПб.: Диалект, 2005; 608 с.
66. Хайбуллин, Т.Н. Этнические и гендерные особенности распространенности основных патогенетических факторов у больных ишемическим инсультом в Восточном Казахстане // Вестник Новгородского государственного университета. – 2012. – №67. – С. 77-82.
67. Холин, М.Л. Клинико-эпидемиологическая характеристика больных с инсультом в Республике Хакасия./ Зайцева О.И., Косова Е.В. // Вестник Хакасского государственного университета им. Н.Ф. Катанова. 2014.- №8. - С. 108-110.
68. Цветовская, Г.А. Современные методы лабораторной диагностики в профилактике повторных тромбозов./ Чикова Е.Д., Кох Н.В., Лифшиц Г.И., Морозов В.В., Новикова Я.В. // Фундаментальные исследования. – 2012. – №10. – С. 353-355.

69. Цветовская, Г.А. Значение молекулярно-генетических методов диагностики в профилактике ишемических инсультов./ Чикова Е.Д., Кох Н.В., Морозов В.В., Ковалева Е.В., Лифшиц Г.И. // *Фундаментальные исследования*. 2014. - №7-5. -С. 1039-1043.
70. Шахпаронова, Н.В. Антиоксидантная терапия при цереброваскулярных заболеваниях. /Кадыков А.С. // *Рос.мед. журн.* – 2010. –Т. 18, №26. – С. 1570–1572.
71. Шацкая, Е.Г. Структура факторов риска у больных с артериальной гипертензией, осложненной разными типами инсультов./ Карпенко М.А., Солнцев В.Н. // *Вестник Российской военно-медицинской академии*. – 2010. – Т. 31 -№3. – С. 26-29.
72. Шишкина, Е.С.Стабилометрический тренинг как метод диагностики и реабилитации неустойчивости пациентов, перенесших ишемический инсульт в вертебро-базилярном отделе // *Современные проблемы науки и образования*. 2014.- №2. -С. 390.
73. Шушарин, А.Г. Медицинское тепловидение – современные возможности метода./ Морозов В.В., Половинка М.П. // *Современные проблемы науки и образования*. – 2011. – № 4.– С. 10-10.
74. Achterberg, S. SMART Study Group and the METASTROKE Consortium. No Additional Prognostic Value of Genetic Information in the Prediction of Vascular Events after Cerebral Ischemia of Arterial Origin: The PROMISE Study./ Kappelle L.J., de Bakker P.I., Traylor M., Algra A; // *PLoS One*. 2015.-V. 10, №4. e0119203.
75. Adams H.P. Guidelines for the Early Management of Adults With Ischemic Stroke. / delZoppo G. Alberts M.J. // *Stroke*. – 2007. – №38. – P. 1655-1711.
76. Agarwal S. Current trial-associated outcomes with warfarin in prevention of stroke in patients with nonvalvular atrial fibrillation: a meta-analysis/ Hachamovitch R, Menon V. // *Arch Intern Med*. – 2012. –V. 172, №8. – P. 623-631.

77. Alivia M. Towards salutogenesis in the development of personalised and preventive healthcare /Guadagni P., di Sarsina P.R. // EPMA J. – 2011. – V.2, №4. – P. 381–384.
78. Avdonina M.A. Association study of polymorphic markers of F12, PON1, PON2, NOS2, PDE4D, HIF1a, GPIIb, CYP11B2 genes with ischemic stroke in Russian patients. /Nasedkina T.V., IkonnikovaA.Iu., Bondarenko E.V., SlominskiĭP.A., Shamalov N.A., Shetova I.M., Limborskaia S.A., Zasedatelev A.S., Skvortsova V.I. //ZhNevrolPsikhiatrIm S SKorsakova. – 2012. – V. 112, №2. – P. 51-54.
79. Berger C. Neuroprotection and glutamate attenuation by acetylsalicylic acid in temporary but not in permanent cerebral ischemia/ Stauder A., Xia F., Sommer C. // Exp Neurol. – 2007. – №210. – P. 543–548.
80. Bevan S. Genetic heritability of ischemic stroke and the contribution of previously reported candidate gene and genomewide associations /Traylor M., Adib-Samii P., Malik R., Paul N.L., Jackson C., Farrall M., Rothwell P.M., Sudlow C., Dichgans M., Markus H.S. // Stroke. – 2012. – V. 43, №12. – P. 3161-3167.
81. Bogdanov A.N.Epidemiology and Risk Factors of Ischemic Stroke in the Climatic Conditions of the North of Western Siberia // European Researcher. – 2012. – V.26, № 8-1. – P. 1170-1174.
82. Bots M.L. Total and HDL cholesterol and risk of stroke. EUROSTROKE: a collaborative study among research in Europe. /Elwood P.C., Nikitin Y., Salonen J., FreireD., Inzitari D., Sivenius J., Benetou V., Tuomilehto J., Koudstaal P., GrobbeeD.// J EpidemiolCommun Health. – 2002. – №56 (supp 11). – P.19–24.
83. Bradnam L.V. Ipsilateral Motor Pathways after Stroke: Implications for Non-Invasive Brain Stimulation /Stinear C.M., Byblow W.D. // Front Hum Neurosci. – 2013. – №7. – P. 184.
84. Coca A. Predicting stroke risk in hypertensive patients with coronary artery disease: a report from the INVEST /Messerli F.H., Benetos A., Zhou Q., Champion A., Cooper-DeHoff R.M., PepineC.J. // Stroke. – 2008. – №39. – P. 343–348.

85. De Meyer S.F. Development of monoclonal antibodies that inhibit platelet adhesion or aggregation as potential anti-thrombotic drugs /Vanhoorelbeke K., Ulrichs H., Staelens S., Feys H.B., Salles I., Fontayne A., Deckmyn H. // *CardiovascHematolDisord Drug Targets*. – 2006. – №6. – P. 191–207.
86. Debette S., Genetics of atherothrombotic and lacunar stroke /Seshadri S. // *CircCardiovasc Genet*. – 2009. – V. 2, №2. – P. 191–198.
87. Del Zoppo G.J. Plasminogen Activators and Ischemic Stroke: Conditions for Acute Delivery // *SeminThrombHemost*. – 2013. – V. 39, №4. – P. 406–425.
88. Denford S. Doctors' understanding of individualisation of drug treatments: a qualitative interview study /Frost J., Dieppe P., Britten N. // *BMJ Open*. – 2013. – V. 3, №5. – P. e002706.
89. Di Sarsina P.R. Traditional, complementary and alternative medical systems and their contribution to personalisation, prediction and prevention in medicine—person-centred medicine /Alivia M.,Guadagni P. // *EPMA J.*– 2012. – V.3, №1. – P. 15.
90. Dichgans M. Genetics of ischaemic stroke // *Lancet Neurol*. – 2007. – V. 6, №2. – P. 149-161.
91. Donahue M.J. Novel MRI approaches for assessing cerebral hemodynamics in ischemic cerebrovascular disease /Strother M.K., Hendrikse J. // *Stroke*. – 2012. – V. 43, №3. – P. 903-915.
92. Elkind M.S. Epidemiology and risk factors // *Continuum (MinneapMinn)*. – 2011. – №17(6 2ndary Stroke Prevention). – P. 1213-1232.
93. Ellis J.A. Endovascular treatment strategies for acute ischemic stroke /Youngerman B.E., Higashida R.T., Altschul D., Meyers P.M. // *Int J of Stroke*. – 2011. – V. 6, №6. – P. 511-522.
94. European Stroke Organisation (ESO) Executive Committee; ESO Writing Committee. Guidelines for management of ischaemic stroke and transient ischaemic attack // *Cerebrovasc Dis*. – 2008. – №25. – P. 457 – 507.
95. Evangelista F.C. Lack of association between potential prothrombotic genetic risk factors and arterial and venous thrombosis/ Rios D.R., Ribeiro D.D., Carvalho

- M.G., Dusse L.M., Fernandes A.P., Sabino A.P. // *Genet Mol Res.* 2015.V. 14, №3. P. 9585-9594.
96. Ewan L.M. An observation-based intervention for stroke rehabilitation: experiences of eight individuals affected by stroke /Kinmond K., Holmes P.S. // *DisabilRehabil.* – 2010. – V. 32, №25. – P. 2097-2106.
 97. Fearheller D.L. Fenty-Stewart N.M.Exercise Training, NADPH Oxidase p22phox Gene Polymorphisms, and Hypertension /Brown M.D., Park J.-Y., Brinkley T.E., Basu S., Hagberg J.M., Ferrell R.E.// *Med Sci Sports Exerc.* – 2009. –V. 41, №7. – P. 1421–1428.
 98. Fisher R., Delivering preventive, predictive and personalised cancer medicine for renal cell carcinoma: the challenge of tumour heterogeneity/ Larkin J., Swanton C. // *EPMA J.* – 2012. – V. 3, №1. – P. 1.
 99. Fujimoto H. Association of the manganese superoxide dismutase polymorphism with vasospastic angina pectoris /Kobayashi H., Ogasawara K., Yamakado M., Ohno M. // *J Cardiol.* – 2010. –V. 55, №2. – P. 205-210.
 100. Fung T.T. Mediterranean diet and incidence of and mortality from coronary heart disease and stroke in women /Rexrode K.M., Mantzoros C.S., Hu F.B. // *Circulation.* – 2009. – №119. – P. 1093–1100.
 101. García Carrasco D., Aboitiz Cantalapiedra J. Effectiveness of motor imagery or mental practice in functional recovery after stroke: a systematic review // *Neurologia.* – 2013. Режим доступа: URL<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23601759>.
 102. Gefenas E. Does the “new philosophy” in predictive, preventive and personalised medicine require new ethics? /Cekanauskaite A., Tuzaitė E., Dranseika V., Characiejus D. // *EPMA J.* – 2011. –V. 2, №2. – P. 141–147.
 103. Golubnitschaja O. European strategies in predictive, preventive and personalised medicine: highlights of the EPMA World Congress 2011 /Costigliola V. // *EPMA J.* – 2011. – V. 2, №4. – P. 315–332.
 104. Golubnitschaja O. General Report & Recommendations in Predictive, Preventive and Personalised Medicine 2012: White Paper of the European Association for

- Predictive, Preventive and Personalised Medicine /Costigliola V.// EPMA J. – 2012. – V. 3, №1. – P. 14.
105. González R.G. Clinical MRI of Acute Ischemic Stroke // J MagnReson Imaging. – 2012. – V. 36, №2. – P. 259–271.
 106. Gretarsdottir S. Risk variants for atrial fibrillation on chromosome 4q25 associate with ischemic stroke /Thorleifsson G., Manolescu A. // Ann Neurol. – 2008. – №64. – P. 402–409.
 107. Grunda T. Homonymous hemianopia and related visual defects: Restoration of vision after a stroke /Marsalek P., Sykorova P. // ActaNeurobiolExp (Wars). – 2013. – V. 73, №2. – P. 237-249.
 108. Gu D.P. The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: a systematic review and meta-analysis /Zhang W., Bansback N., Amarsi Z., Birmingham L., Anis A.H. //BMC Public Health. – 2009. – №9 – P. 88–90.
 109. Gudbjartsson D.F. A sequence variant in ZFHX3 on 16q22 associates with atrial fibrillation and ischemic stroke /Holm H., Gretarsdottir S. // Nat Genet. – 2009. – №41. – P. 876–878.
 110. Haapaniemi E. Is D-dimer helpful in evaluating stroke patients? A systematic review /Tatlisumak T.// ActaNeurol Scand. – 2009. – V. 119, №3. – P. 141-150.
 111. Haeusler K.G., Laufs U., Endres M. Chronic heart failure and ischemic stroke // Stroke. – 2011. –V. 42, №10. – P. 2977-2982.
 112. Hankey G.J. Antithrombotic drugs for patients with ischaemic stroke and transient ischaemic attack to prevent recurrent major vascular events /Eikelboom J.W. // Lancet Neurol. – 2010. – №9. – P. 273–284.
 113. Hanscombe K.B. METASTROKE Consortium; Wellcome Trust Case Control Consortium 2, Williams F.M., Markus H.S., Lewis CM. Genetic Factors Influencing Coagulation Factor XIII B-Subunit Contribute to Risk of Ischemic Stroke/ Traylor M., Hysi P.G., Bevan S., Dichgans M., Rothwell P.M., Worrall B.B., Seshadri S., Sudlow C // Stroke. 2015. V. 46, №8. P. 2069-2074.
 114. Hassan A. Genetics and ischaemic stroke /Markus H.S. // Brain. – 2000. – V. 123, №9. – P. 1784-1812.

115. Heckman M.G. Genetic variants associated with myocardial infarction in the PSMA6 gene and Chr9p21 are also associated with ischaemic stroke /Soto-Ortolaza A.I., Diehl N.N., Rayaprolu S., Brott T.G., Wszolek Z.K., Meschia J.F., Ross O.A. // *Eur J Neurol.* – 2013. – V. 20, №2. – P. 300-308.
116. Heinemann V. Targeted therapy in metastatic colorectal cancer - An example of personalised medicine in action /Douillard J.Y., Ducreux M., Peeters M. // *Cancer Treat Rev.* – 2013. – V. 39, №6. – P. 592-601.
117. Hisham N.F. Epidemiology, Pathophysiology, and Treatment of Hypertension in Ischaemic Stroke Patients /Bayraktutan U.// *J Stroke Cerebrovasc Dis.* – 2012. T-22. – V. 7 – P. e4-e14.
118. Khan T.A. Apolipoprotein E genotype, cardiovascular biomarkers and risk of stroke: Systematic review and meta-analysis of 14 015 stroke cases and pooled analysis of primary biomarker data from up to 60 883 individuals /Shah T., Prieto D., Zhang W., Price J. // *Int J Epidemiol.* – 2013. – V. 42, №2. – P. 475-492.
119. Kraft P. Acute ischemic stroke: new approaches to antithrombotic treatment /Nieswandt B., Stoll G., Kleinschnitz C. // *Nervenarzt.* – 2011. – №83. – P. 435–449.
120. Kubo M. Genetic risk factors of ischemic stroke identified by a genome-wide association study // *Brain Nerve.* – 2008. – V. 60, №11. – P. 1339-1346.
121. Kuklina E.V. Epidemiology and prevention of stroke: a worldwide perspective /Tong X., George M.G., Bansil P. // *Expert Rev Neurother.* – 2012. –V. 12, №2. – P. 199-208.
122. Ladner T.R. Genetics of Cerebral Vasospasm /Zuckerman S.L., Mocco J. // *Neurol Res Int.* – 2013. – P. 291895.
123. Lazaridou A. Yoga and Mindfulness as Therapeutic Interventions for Stroke Rehabilitation: A Systematic Review /Philbrook P., Tzika A.A. // *Evid Based Complement Alternat Med.* – 2013. – P. 357108.
124. Lee M.-S. Personalized Medicine in Cardiovascular Diseases /Flammer A.J., Lerman L.O., Lerman A. // *Korean Circ J.* – 2012. – V.42, №9. – P. 583–591.

125. Lees K.R. Time to treatment with intravenous alteplase and outcome in stroke: An updated pooled analysis of ECASS, ATLANTIS, NINDS, and EPITHET trials /Bluhmki E., Kummer R. // *Lancet*. – 2010. – №375. – P. 1695–1703.
126. Leyden J.M. Adelaide stroke incidence study: declining stroke rates but many preventable cardioembolic strokes /Kleinig T.J., Newbury J., Castle S., Cranefield J., Anderson C.S., Crotty M., Whitford D., Jannes J., Lee A., Greenhill J.//*Stroke*. – 2013. – V. 44, №5. – P. 1226-1231.
127. Lin H.F. Demethylation of Circulating Estrogen Receptor Alpha Gene in Cerebral Ischemic Stroke /Hsi E., Liao Y.C., Chhor B., Hung J., Juo S.H., Lin R.T. //*PLoS One*.2015.V.10, №9. e0139608.
128. Lindgren A. Stroke genetics: a review and update // *J Stroke*. 2014. -V.16, -№3.- P. 114-123.
129. Liu M.E. A functional polymorphism of PON1 interferes with microRNA binding to increase the risk of ischemic stroke and carotid atherosclerosis /Liao Y.C., Lin R.T., Wang Y.S., Hsi E., Lin H.F., Chen K.C., Juo S.H. // *Atherosclerosis*. – 2013. – V. 228, №1. – P. 161-167.
130. Loos R.J. Genetic determinants of common obesity and their value in prediction // *Best Pract Res ClinEndocrinolMetab*. – 2012. – V. 26, №2. – P. 211-226.
131. Lushchik U.B. Predictive and preventive strategies to advance the treatments of cardiovascular and cerebrovascular diseases: the Ukrainian context /Novytsky V.V., Babii I.P., Lushchik N.G., Riabets L.S. // *EPMA J*.– 2012. – V.3, №1. – P. 12.
132. Macintosh B.J. Magnetic resonance imaging to visualize stroke and characterize stroke recovery: a review /Graham S.J. // *Front Neurol*. – 2013. –V. 27, №4. – P. 60.
133. Malyutina S. Relation between heavy and binge drinking and all-cause and cardiovascular mortality in Novosibirsk, Russia: a prospective cohort study /Bobak M., Kurilovitch S., Gafarov V., Simonova G., Nikitin Y., Marmot M.//*Lancet*. – 2002. – №360. – P. 1448–1454.

134. Markus H.S. Stroke genetics: prospects for personalized medicine // BMC Med. – 2012. – №10. – P. 113.
135. Markus H.S. Evidence HDAC9 Genetic Variant Associated With Ischemic Stroke Increases Risk via Promoting Carotid Atherosclerosis /Mäkelä K.M., Bevan S., Raitoharju E., Oksala N., Bis J.C., O'Donnell C., Hainsworth A., Lehtimäki T. // Stroke. – 2013. – V. 44, №5. – P. 1220-1225.
136. Mazzone T. Cardiovascular disease risk in type 2 diabetes mellitus: insights from mechanistics studies /Chait A., Plutzky J. // Lancet. – 2008. – №371. – P. 1800–1809.
137. McCourt C.M. Immunohistochemistry in the era of personalised medicine /Boyle D., James J., Salto-Tellez M. // J ClinPathol. – 2013. – V. 66, №1. – P. 58-61.
138. Meschia J.F. New Information on the Genetics of Stroke // CurrNeurolNeurosci Rep. – 2011. – V. 11, №1. – P. 35–41.
139. Mesko B. The triad of success in personalised medicine: pharmacogenomics, biotechnology and regulatory issues from a Central European perspective /Zahuczky G., Nagy L. // N Biotechnol. – 2012. – V. 29, №6. – P. 741-750.
140. Mi H. Polymorphisms in the PTX1 may not be associated with ischemicstroke susceptibility /Hu W. //Int J ClinExp Med. 2014.V.7, №11. P. 3992-3999.
141. Miossec P. Group for Respect of Ethics and Excellence in Science (GREES). Biomarkers and personalised medicine in rheumatoid arthritis: a proposal for interactions between academia, industry and regulatory bodies /Verweij C.L., Klareskog L., Pitzalis C., Barton A., Lekkerkerker F., Reiter S., Laslop A., Breedveld F., Abadie E., Flamion B., Dere W., Mpofu S., Goel N., Ethgen D., Mitlak B., Ormarsdóttir S., Rao R., Tsouderos Y., Reginster J.Y.; // Ann Rheum Dis. – 2011. – V. 70, №10. – P. 1713-1718.
142. Mishra S.K.The therapeutic value of yoga in neurological disorders /Singh P., Bunch S.J., Zhang R.// Ann Indian Acad Neurol. – 2012. – V. 15, №4. – P. 247-54.
143. Mudzi W. Case fatality of patients with stroke over a 12-month period post stroke /Stewart A., Musenge E.// S Afr Med J. – 2012. – V. 102, №9. – P. 765-767.

144. Muiño E. An Inflammatory Polymorphisms Risk Scoring System for the Differentiation of Ischemic Stroke Subtypes /Krupinski J., Carrera C., Gallego-Fabrega C., Montaner J., Fernández-Cadenas I. // *Mediators Inflamm.* 2015. 569714.
145. Mukherjee D. Epidemiology and the global burden of stroke /Patil C.G. // *World Neurosurg.* – 2011. – №76 (6 Suppl). – P. 85-90.
146. Norra C. Sleep disturbances and suicidality: a common association to look for in clinical practise and preventive care /Richter N., Juckel G. // *EPMA J.* –2011. – V.2, №3. – P. 295–307.
147. Oh C.H. Cerebrovascular disease and stroke in Korean male adolescent /Chung J., Hyun D., Kim E., Park H.// *Yonsei Med J.* – 2012. – V. 53, №3. – P. 467-476.
148. Orzuza G. Epidemiological aspects of stroke in very old patients /Zurrú M.C.//*CardiovascHematolDisord Drug Targets.* – 2011. – V. 11, №1. – P. 2-5.
149. Patel S. A review of wearable sensors and systems with application in rehabilitation /Park H., Bonato P., Chan L., Rodgers M. // *J NeuroengRehabil.* – 2012. – №9. – P. 21.
150. Pirmohamed M. Pharmacogenetics: past, present and future //*Drug Discov Today.* – 2011. – V. 16, №№19-20. – P. 852-861.
151. Prasongchean W. Autologous stem cells for personalised medicine /Ferretti P. // *N Biotechnol.* – 2012. – V. 29, №6. – P. 641-650.
152. Rhéaume C. Adiposity assessment: explaining the association between obesity, hypertension and stroke /Leblanc M.È., Poirier P. // *Expert Rev CardiovascTher.* – 2011. – V. 9, №12. – P. 1557-1564.
153. Rigby M. Personal Health, Person-centred Health and Personalised Medicine - Concepts, Consumers, Confusion and Challenges in the Informatics World // *Yearb Med Inform.* – 2012. – V. 7, №1. – P. 7-15.
154. Romero J.R. Stroke prevention: modifying risk factors /Morris J., Pikula A. // *TherAdvCardiovasc Dis.* – 2008. – V. 2, №4. – P. 287–303.
155. Romero J.R. Epidemiology of Stroke: Legacy of the Framingham Heart Study /Wolf P.A. // *Glob Heart.* – 2013. – V. 1, №8(1). – P. 67-75.

156. Ronteltap A. Nutrigenomics-based personalised nutritional advice: in search of a business model? / van Trijp H., Berezowska A., Goossens J. // *Genes Nutr.* – 2013. – V.8, №2. – P. 153–163.
157. Rutten-Jacobs L.C. Common NOTCH3 Variants and Cerebral Small-Vessel Disease / Traylor M., Adib-Samii P., Thijs V., Sudlow C., Rothwell P.M., Boncoraglio G., Dichgans M., Bevan S., Meschia J., Levi C., Rost N.S., Rosand J., Hassan A., Markus H.S. // *Stroke*. 2015. V. 46, №6. P. 1482-1487.
158. Sahota P. Investigational Therapies for Ischemic Stroke: Neuroprotection and Neurorecovery / Savitz S.I. // *Neurotherapeutics.* – 2011. – V. 8, №3. – P. 434–451.
159. Sawhney V. Current Genomics in Cardiovascular Medicine / Brouillette S., Abrams D., Schilling R., O'Brien B. // *Curr Genomics.* – 2012. - V 13, №6. – P. 446–462.
160. Schjetnan A.G.P. Transcranial Direct Current Stimulation in Stroke Rehabilitation: A Review of Recent Advancements / Faraji J., Metz G.A., Tatsuno M., Luczak A. // *Stroke Res Treat.* – 2013. – P. 170256.
161. Schmidt S. Patterned Brain Stimulation, What a Framework with Rhythmic and Noisy Components Might Tell Us about Recovery Maximization / Scholz M., Obermayer K., Brandt S.A. // *Front Hum Neurosci.* – 2013. – №7. – P. 325.
162. Schürks M. Association between polymorphisms in the beta2-adrenergic receptor gene with myocardial infarction and ischaemic stroke in women / Kurth T., Ridker P.M., Buring J.E., Zee R.Y. // *Thromb Haemost.* – 2009. – №101. – P. 351–358.
163. Shetova I.M. The association between the DNA marker rs1842993 and risk for cardioembolic stroke in the Slavic population / Timofeev D.Iu., Shamalov N.A., Bondarenko E.A., Slominskiĭ P.A., Limborskaia S.A., Skvortsova V.I. // *Zh Nevrol Psikhiatr Im S Korsakova.* – 2012. – V. 112, №3 Pt 2. – P. 38-41.
164. Shinton R. Meta-analysis of relation between cigarette smoking and stroke / Beevers G. // *BMJ.* – 1989. – №298. – P. 789–794.
165. Singh N. Hypoxia inducible factor-1: its potential role in cerebral ischemia / Sharma G., Mishra V. // *Cell Mol Neurobiol.* – 2012. – V. 32, №4. – P. 491-507.

166. Soler E.P. Epidemiology and risk factors of cerebral ischemia and ischemic heart diseases: similarities and differences/ Ruiz V.C.//CurrCardiol Rev. – 2010. – V. 6, №3. – P. 138-149.
167. Stanne T.M. Genetic variation at the BDNF locus: evidence for association with long-term outcome after ischemic stroke /Tjärnlund-Wolf A., Olsson S., Jood K., Blomstrand C., Jern C. //PLoS One. 2014.V.9, №12. e114156.
168. Strazzullo P. Salt intake, stroke and cardiovascular disease: a meta-analysis of prospective studies /D’Elia.L, Kandala N., Capuccio F.P. // BMJ. – 2009. – №339. – P. 4567–4570.
169. Stringhini S. Declining stroke and myocardial infarction mortality between 1989 and 2010 in a country of the african region /Sinon F., Didon J., Gedeon J., Paccaud F., Bovet P. // Stroke. – 2012. – V. 43, №9. – P. 2283-2288.
170. Stroke Statistics. 2009 Edition. British Heart Foundation Statistics Database.
171. Stroke Statistics. Stroke Association, 2013.
172. Takeuchi N. Izumi S.-I. Rehabilitation with Poststroke Motor Recovery: A Review with a Focus on Neural Plasticity // Stroke Res Treat. – 2013. – P. 128641.
173. Tolstrup J., Prospective study of alcohol drink patterns and coronary heart disease in women and men /Jensen M.K., Tjønneland A., Overvad K., Mukamal K.J., Gronbaek M.// BMJ. – 2006. – №332. – P. 1244–1248.
174. Traylor M., (2012) Genetic risk factors for ischaemic stroke and its subtypes (the METASTROKE Collaboration): a meta-analysis of genome-wide association studies /Farrall M., Holliday E.G., Sudlow C., Hopewell J.C., et al. // Lancet Neurol. – 2012. – №11. – P. 951–962.
175. Tummers J.F.M.M., Economic evidence on integrated care for stroke patients; a systematic review /Schrijvers A.J.P, Visser-Meily J.M.A. // Int J Integr Care. – 2012. – №12. – P. e193.
176. Turtzo C., Sex Differences in Stroke /McCullough L.D. // Cerebrovasc Dis. – 2008. – V. 26, №5. – P. 462–474.

177. Voetsch B., Promoter Polymorphisms in the Plasma Glutathione Peroxidase (GPx-3) Gene: A Novel Risk Factor for Arterial Ischemic Stroke among Young Adults and Children /Jin R.C., Bierl C., Benke K.S., Kenet G., Simioni P., Ottaviano F., Damasceno B.P., Annichino-Bizacchi J.M., Handy D.E., Loscalzo J. // *Stroke*. – 2007. – V. 38, №1. – P. 41–49.
178. Waje-Andreassen U., Biomarkers Related to Carotid Intima-Media Thickness and Plaques in Long-Term Survivors of Ischemic Stroke /Naess H., Thomassen L., Maroy T.H., Mazengia K.Y., Eide G.E., Vedeler C.A.//*Transl Stroke Res*. 2015. V.6, №4. P. 276-283.
179. Wang M., Endothelial NO synthase gene polymorphisms and risk of ischemic stroke in Asian population: a meta-analysis /Jiang X., Wu W, Zhang D. // *PLoS One*. – 2013. – V. 8, №3. – P. e60472.
180. Wei L.K., A potential epigenetic marker mediating serum folate and vitamin B12 levels contributes to the risk of ischemic stroke /Sutherland H., Au A., Camilleri E., Haupt L.M., Gan S.H., Griffiths L.R. // *Biomed Res Int*. 2015. P. 167976.
181. Williams F.M.K., Ischemic Stroke Is Associated with the ABO Locus: The EuroCLOT Study /Carter A.M., Hysi P.G., Surdulescu G., Hodgkiss D., et al. // *Ann Neurol*. – 2013. – V. 73, №1. – P. 16–31.
182. Xu G., Is there a stroke belt in china and why? /Ma M., Liu X., Hankey G.J. // *Stroke*. – 2013. –V. 44, №7. – P. 1775-1783.
183. Yadav S., Detailed Analysis of Gene Polymorphisms Associated with Ischemic Stroke in South Asians /Hasan N., Marjot T., Khan M.S., Prasad K., Bentley P., Sharma P. // *PLoS One*. – 2013. – V. 8, №3. – P. e57305.
184. Yamase Y., Association of TOMM40 and SLC22A4 polymorphisms with ischemic stroke /Horibe H., Ueyama C., Fujimaki T., Oguri M., Kato K., Arai M., Watanabe S., Yamada Y. // *Biomed Rep*. 2015. V.3, №4. P. 491-498.
185. Yang N.Y.H., Rehabilitation Interventions for Unilateral Neglect after Stroke: A Systematic Review from 1997 through 2012 /Zhou D., Chung R.C.K., Li-Tsang C.W.P., Fong K.N.K. // *Front Hum Neurosci*. – 2013. – №7. – P. 187.

186. You R.X., Melbourne Stroke Risk Factor Study (MERFS) Group. Ischemic stroke risk and passive exposure to spouses' cigarette smoking /Thrift A.G., McNeil J.J., Davis S.M., Donnan G.A. //Am J Public Health. – 1999. – №89. – P. 572–575.
187. Zhang G., Association between paraoxonase gene and stroke in the Han Chinese population /Li W., Li Z., Lv H., Ren Y., Ma R.,Li X., Kang X., Shi Y., Sun Y. // BMC Med Genet. – 2013. – №14. – P. 16.
188. Zhang S.-y., Association of ALOX5AP gene single nucleotide polymorphisms and cerebral infarction in the Han population of northern China /Xu M.-l., Zhang C.-e, Qu Z.-y., Zhang B.-b., Zheng Z.-y., Zhang L.-m. // BMC Med Genet. – 2012. – №13. – P. 61.
189. Zhang Z., Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism contributes to ischemic stroke risk: a meta-analysis of 50 case-control studies /Xu G., Liu D., Fan X., Zhu W., Liu X.// PLoS One. – 2012. – V. 7, №10. – P. e46495.